



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>G01N 33/543, 33/547, C12N 11/06, C07F 15/04, C08G 61/02</b>		A1	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 99/61912</b> (43) Date de publication internationale: 2 décembre 1999 (02.12.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/01207 (22) Date de dépôt international: 21 mai 1999 (21.05.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/06540 25 mai 1998 (25.05.98) FR (71) Déposants ( <i>pour tous les Etats désignés sauf US</i> ): COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 31-33, rue de la Fédération, F-75015 Paris (FR). CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE-CNRS [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794 Paris Cedex 16 (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants ( <i>US seulement</i> ): BALAVOINE, Fabrice [FR/FR]; 122, rue de Javel, F-75015 Paris (FR). MIOSKOWSKI, Charles [FR/FR]; 14, rue Baudelaire, F-67200 Strasbourg (FR). SCHULTZ, Patrick [FR/FR]; 15, rue de l'Amiral Exelmans, F-67640 Fegersheim (FR). (74) Mandataire: CABINET ORES; 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR).		(81) Etats désignés: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  Publiée Avec rapport de recherche internationale.	
(54) Title: MOLECULAR ROD AND USES (54) Titre: BATON MOLECULAIRE ET SES APPLICATIONS <div style="text-align: center;"><math display="block">\left( \begin{array}{c} \text{P} - \text{E} \\   \quad \text{p} \\ \text{GpF} \end{array} \right)_n \quad (I)</math></div> (57) Abstract The invention concerns molecular rods, their uses in a method for fixing and/or crystallising macromolecules, the resulting products and uses of said products in the field of materials and structural biology, in particular as biosensors or as biomaterials. Said molecular rods have a structure represented by the general formula (I) and said method essentially consists in incubating, for at least 15 minutes, a biological macromolecule in solution with a molecular rod as defined by the formula, in suitable temperature and pH conditions. (57) Abrégé Bâtons moléculaires, leurs utilisations dans un procédé de fixation et/ou de cristallisation de macromolécules, produits ainsi obtenus ainsi qu'applications desdits produits dans le domaine des matériaux et de la biologie structurale, notamment comme biocapteurs ou comme biomatériaux. Lesdits bâtons moléculaires présentent une structure représentée par la formule générale (I) et ledit procédé comprend essentiellement l'incubation, pendant au moins 15 minutes, d'une macromolécule biologique en solution avec un bâton moléculaire tel que défini dans la formule, dans des conditions de température et de pH convenables.			

BEST AVAILABLE COPY

# *UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION*

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

## BATON MOLECULAIRE ET SES APPLICATIONS.

La présente invention est relative à des bâtons moléculaires, à leurs utilisations dans un procédé de fixation et/ou de cristallisation de macromolécules, aux produits ainsi obtenus ainsi qu'aux applications desdits produits dans le domaine des matériaux et de la biologie structurale, notamment comme biocapteurs ou comme biomatériaux.

La connaissance de la structure des protéines et notamment de leurs sites actifs est essentielle à la compréhension de leur mécanisme d'action. On dispose, pour réaliser de telles études, de plusieurs méthodes : rayons X, RMN, électrocristallographie (cristallisation 2D).

Pour réaliser la cristallisation proprement dite, la technique de cristallisation bidimensionnelle sur monocouche ou film lipidique, à l'interface air/eau (E.E. Ugziris et al., *Nature*, 1983, 301, 125-129), permet la formation de systèmes auto-organisés de macromolécules biologiques (cristaux) et la détermination des structures de ces molécules par l'analyse par microscopie électronique des cristaux obtenus.

Cette méthode consiste à créer une monocouche lipidique au niveau d'une interface air/liquide, les lipides étant sélectionnés pour interagir avec les protéines, présentes dans la phase liquide, qui se fixent sur les lipides, puis forment un réseau organisé.

La fixation des protéines sur les lipides de la monocouche met en jeu des interactions chimiques au niveau de la tête polaire des lipides. Ces interactions sont soit aspécifiques, les lipides possédant des extrémités polaires chargées, donnant lieu à une cristallisation par interactions ioniques, soit spécifiques. Dans ce dernier cas, la tête polaire des lipides porte des ligands présentant une forte affinité avec les protéines à fixer.

En particulier, il a pu être montré que des protéines solubles peuvent cristalliser bidimensionnellement sur des films lipidiques chargés, ou fonctionnalisés par un ligand de la protéine étudiée (B.J. Jap et al., *Ultramicroscopy*, 1992, 46, 45-84).

Plus récemment, des lipides fonctionnalisés par des complexes métalliques tels que des complexes de nickel (E.W. Kubalek et al., *J. Struct. Biol.*,

1994, 113, 117-123) ont permis de cristalliser des protéines de fusion dites étiquetées histidine. Ces protéines possèdent en effet, à leur extrémité N- ou C-terminale, une séquence composée de plusieurs histidines. Il a pu être montré que la fixation de telles protéines sur un lipide-nickel était due à une interaction forte entre le complexe nickel  
5 et la séquence poly-histidine (C. Vénien-Brian et al., J. Mol. Biol., 1997, 274, 687-692). De tels lipides fonctionnalisés ont permis d'obtenir une cristallisation, notamment dans les cas où l'on ne disposait pas du ligand approprié.

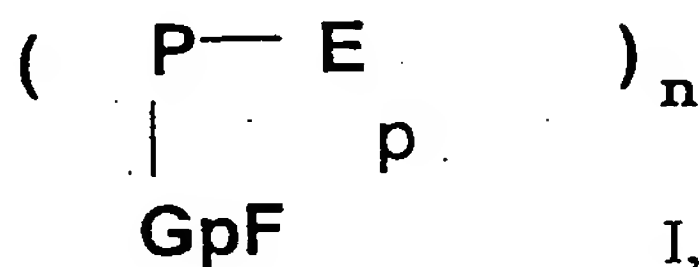
Toutefois, la cristallisation des protéines sur des films lipidiques présente l'inconvénient d'être relativement aléatoire et de dépendre de nombreux  
10 facteurs, qu'il est difficile de maîtriser simultanément :

- le ligand porté par les lipides doit être suffisamment accessible, pour pouvoir interagir avec les protéines. Cette accessibilité dépend de la longueur du bras espaceur entre le lipide et le ligand : trop court, il donne lieu à une pénétration de la protéine à l'intérieur de la couche lipidique ; trop long, il confère un trop grand  
15 degré de liberté à la protéine liée et augmente l'incidence des défauts dans le cristal ;
- la monocouche lipidique doit être suffisamment fluide pour conférer une mobilité latérale et rotationnelle suffisante à la protéine liée, permettant ainsi aux protéines de s'organiser les unes par rapport aux autres et de développer des contacts intermoléculaires, de façon à donner naissance au cristal ;
- 20 - une autre difficulté, inhérente à la cristallisation sur monocouche lipidique concerne la stabilité de la monocouche ; en effet, la stabilité de l'interface air/liquide est difficilement contrôlable. En outre, la monocouche lipidique doit rester stable, non seulement avant la fixation des protéines, mais aussi après leur fixation, pour permettre l'organisation spatiale des protéines ;
- 25 - pour l'étude microscopique, qui suit l'étape de cristallisation, il est nécessaire de réaliser une multitude de plans, du fait de la nature plane de la structure obtenue.

En conséquence, les Inventeurs se sont donné pour but de pourvoir à des structures, dénommées ci-après bâtons moléculaires, adaptées à la fixation et à la  
30 cristallisation en solution de macromolécules biologiques ainsi qu'à un procédé permettant de fixer en solution et éventuellement d'induire une auto-organisation

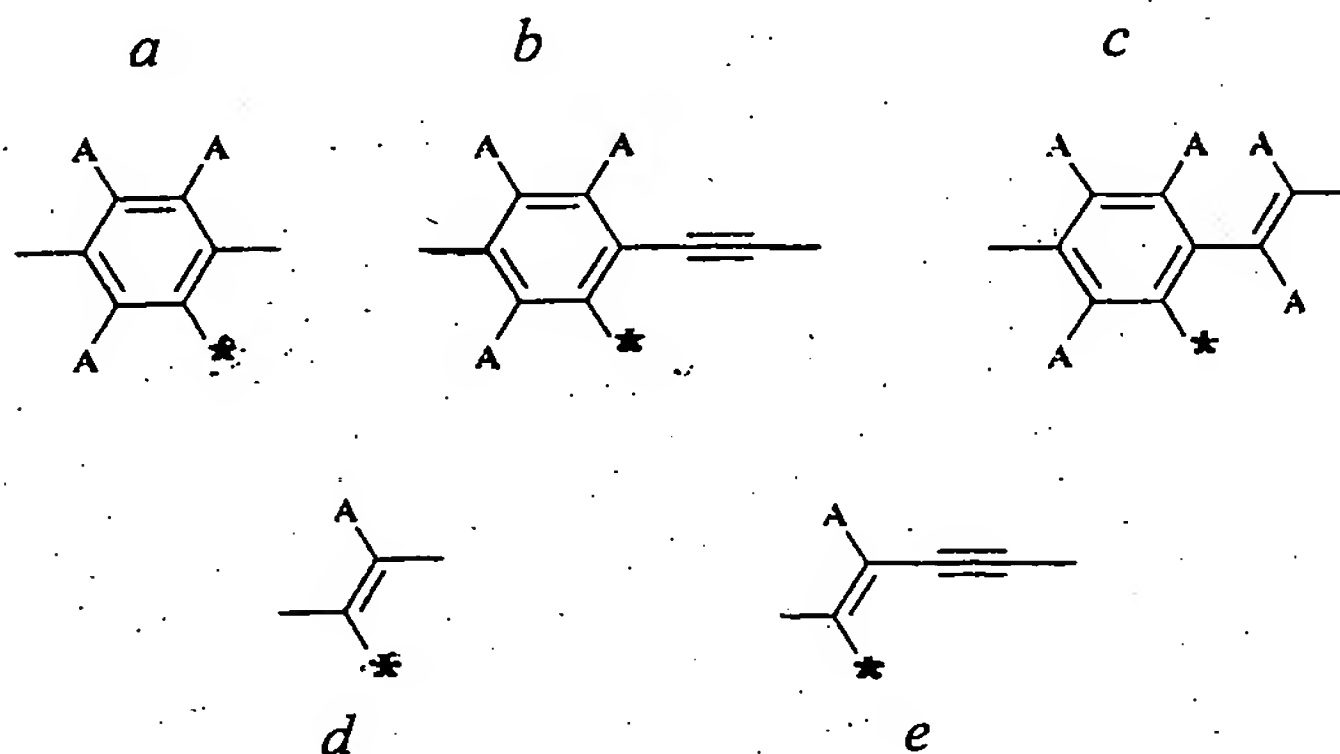
desdites macromolécules biologiques, qui réponde mieux aux besoins de la pratique que les méthodes de cristallisation 2D antérieurement utilisées.

La présente invention a pour objet des bâtons moléculaires, caractérisés en ce qu'ils présentent une structure représentée par la formule générale I suivante :



dans laquelle :

P représente un polymère sélectionné dans le groupe constitué par les polyphénylènes, les polyphénylènevinylènes, les polyphénylèneéthynylènes et les poly-vinylènes, tels qu'illustrés dans les formules ci-après :



\* liaison à GpF

15

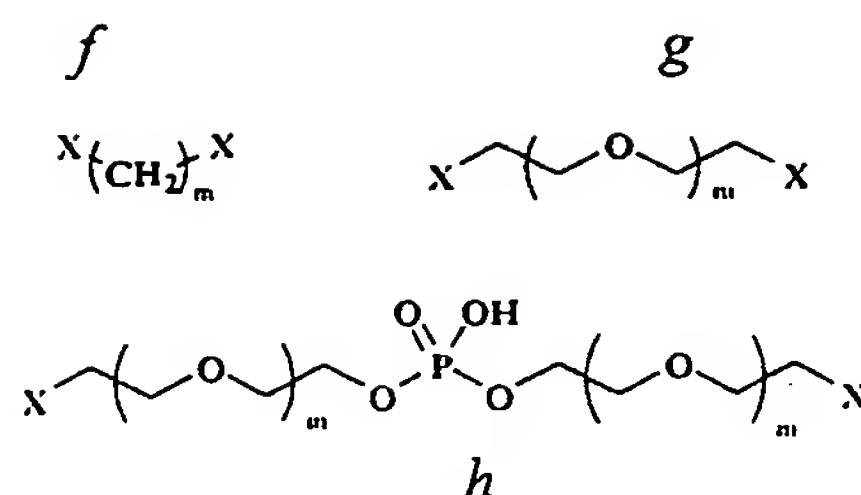
dans lesquelles :

A représente un atome hydrogène ou l'un des groupes suivants : alkyle, OH, O-alkyle, NH<sub>2</sub>, NH-alkyle, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>-alkyle, CONH<sub>2</sub>, CONH-alkyle,

GpF (groupe fonctionnel) représente un groupe B-R, dans lequel :

- B (bras de liaison) est sélectionné parmi des chaînons carbonés en C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, éventuellement substitués par des groupes alkyles, présentant ou non des insaturations ou des motifs poly-oxyéthylène pouvant présenter ou non en milieu de chaîne des groupes phosphate, tels que :

4



dans lesquels :

5 m représente un nombre entier de 1 à 10,  
 X représente O, NHCO, OCO, COO, CONH, S, CH<sub>2</sub> ou NH et  
 constitue aux extrémités desdits chaînons carbonés des fonctions organiques d'accro-  
 chage du type esters, amides, éthers, thioéthers ;

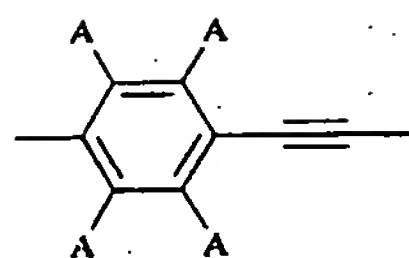
- R représente un groupe hydrophile, sélectionné parmi les groupes  
 10 chargés positivement ou négativement ; des ligands ou analogues de macromolécules  
 biologiques, tels que de manière non limitative, la biotine, la novobiocine, l'acide  
 rétinoïque, les stéroïdes, des antigènes ; des complexes organométalliques interagis-  
 sant avec des acides aminés ou des acides nucléiques, tels que les complexes de  
 cuivre, de zinc, de nickel, de cobalt, de chrome, de platine, de palladium, de fer, de  
 15 ruthénium ou d'osmium avec des ligands comme IDA, NTA, EDTA, bipyridine ou  
 terpyridine, lesdits ligands étant éventuellement fonctionnalisés par des groupements  
 alkyles de liaison à E (au niveau de X) ; on entend par groupes chargés positivement  
 ou négativement et ce de manière non limitative : ammoniums, carboxylates, phos-  
 phates, sulfonates ; on peut citer par exemple les groupes suivants : -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup> ou -  
 20 CO<sub>2</sub><sup>-</sup>.

n représente un nombre entier compris entre 5 et 1000,

p représente un nombre entier compris entre 0 et 10 et

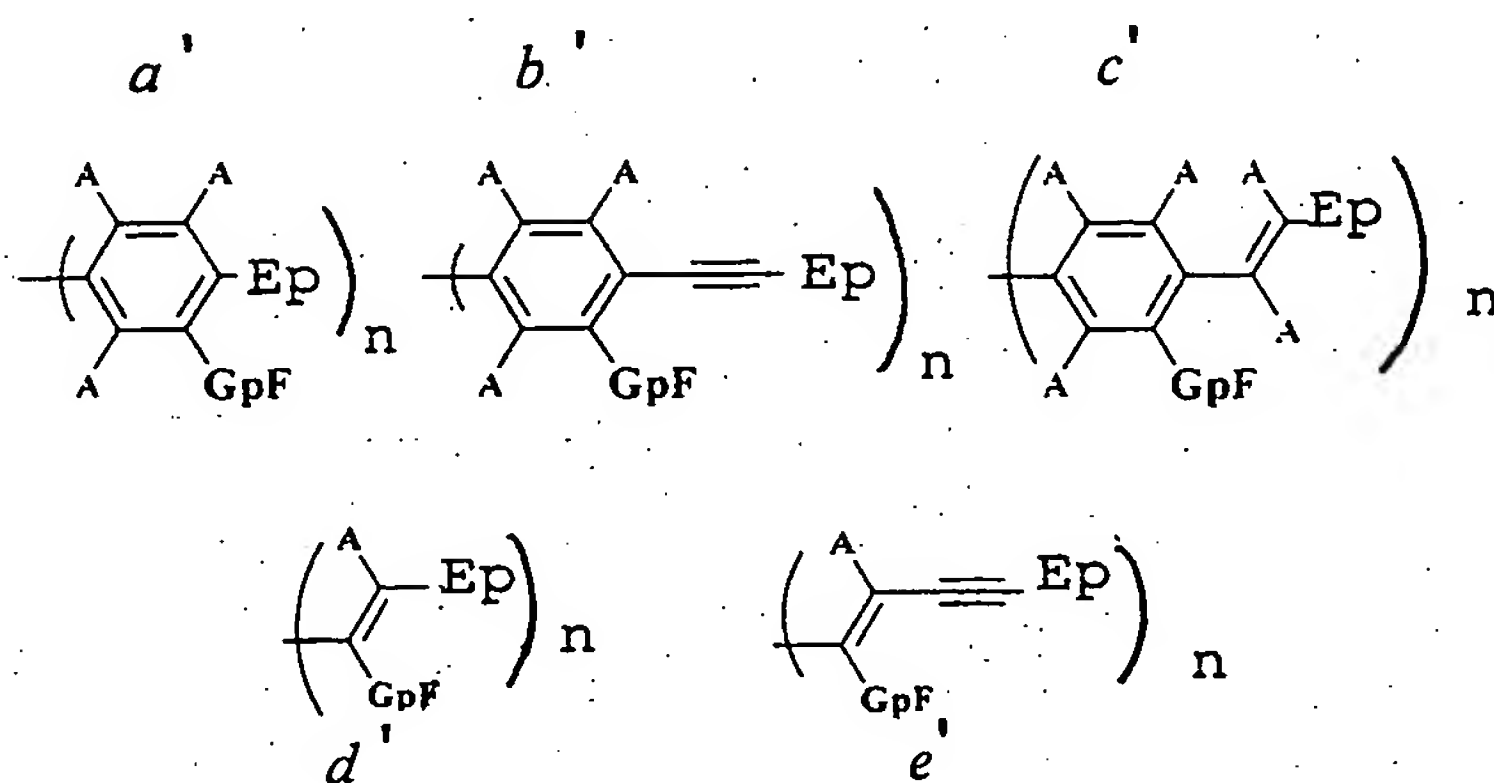
E (segment espaceur) représente un motif chimique dont la nature ne  
 perturbe pas la structure rigide du squelette formé par P et représente un motif phény-  
 25 lène, éthynylène, vinylène ou la combinaison de ces motifs, telle que phénylène-  
 éthynylène, comme illustré dans la formule ci-après :





dans laquelle A représente un atome d'hydrogène ou l'un des groupes suivants : alkyle, OH, O-alkyle, NH<sub>2</sub>, NH-alkyle, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>-alkyle, CONH<sub>2</sub>, CONH-alkyle.

5 Les différents P tels que définis ci-dessus forment avec GpF et E, les formules suivants :



10 On entend au sens de la présente invention par alkyle : des groupements alkyles en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, linéaires ou ramifiés ou éventuellement substitués.

Les substituants des chaînons carbonés en C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, représentant B sont notamment sélectionnés parmi les alkyles en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

15 Des polymères dont le squelette présente un grand nombre de conjugaisons (poly-phénylène ; poly-phénylènevinylène ; poly-phénylèneéthynylène) ont déjà été décrits (*Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, vol.37, pp. 402-428) et sont utilisés pour leur propriétés électroniques et de fluorescence, en optique non-linéaire (*Macromolecules*, 1994, 27, 562-571 et *J. Phys. Chem.*, 1995, 99, 4886-4893).

20 Les polymères selon la présente invention sont fonctionnalisés par des groupes GpF, qui en association avec l'élément E confèrent au bâton moléculaire selon l'invention, des propriétés particulières :

- il est linéaire, rigide et soluble dans les milieux aqueux,
- il est régulièrement fonctionnalisé par des groupement ayant une très forte affinité pour les macromolécules biologiques et

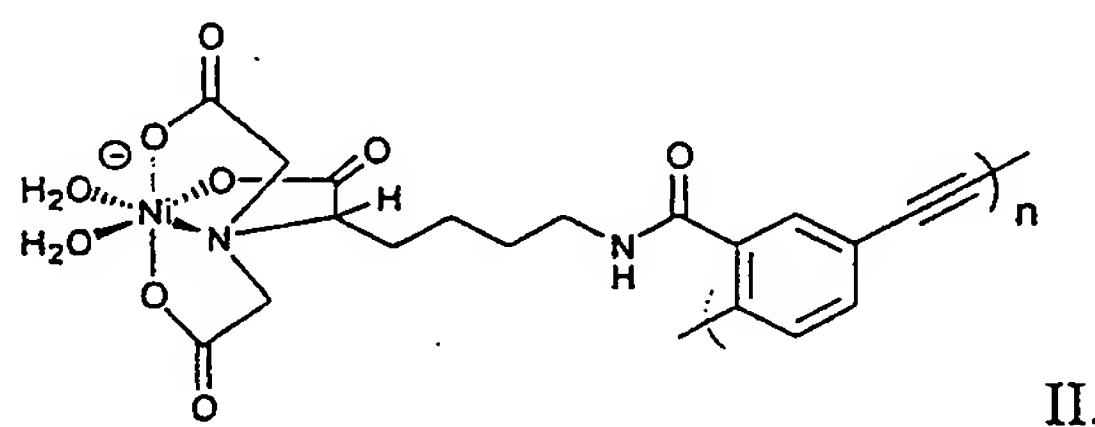
- il est particulièrement bien adapté, lorsqu'il est mis en solution avec une macromolécule biologique, à la fixation et/ou à l'auto-organisation desdites macromolécules sur ledit bâton par reconnaissance moléculaire.

La structure des bâtons moléculaires, conformes à l'invention, est illustrée à la figure 1 :

P constitue un squelette de polymère, qui doit être rigide et globalement linéaire, afin d'avoir un caractère de bâton moléculaire ;

E permet de contrôler la distance L2 entre les groupes fonctionnels GpF, alors que le bras de liaison B de GpF permet de contrôler la distance L1 entre le groupe R et l'axe du polymère, comme illustré à la figure 2.

Selon un mode de réalisation avantageux desdits bâtons moléculaires, ils présentent la formule générale II suivante :



dans laquelle :

$p=0$  : absence de E,

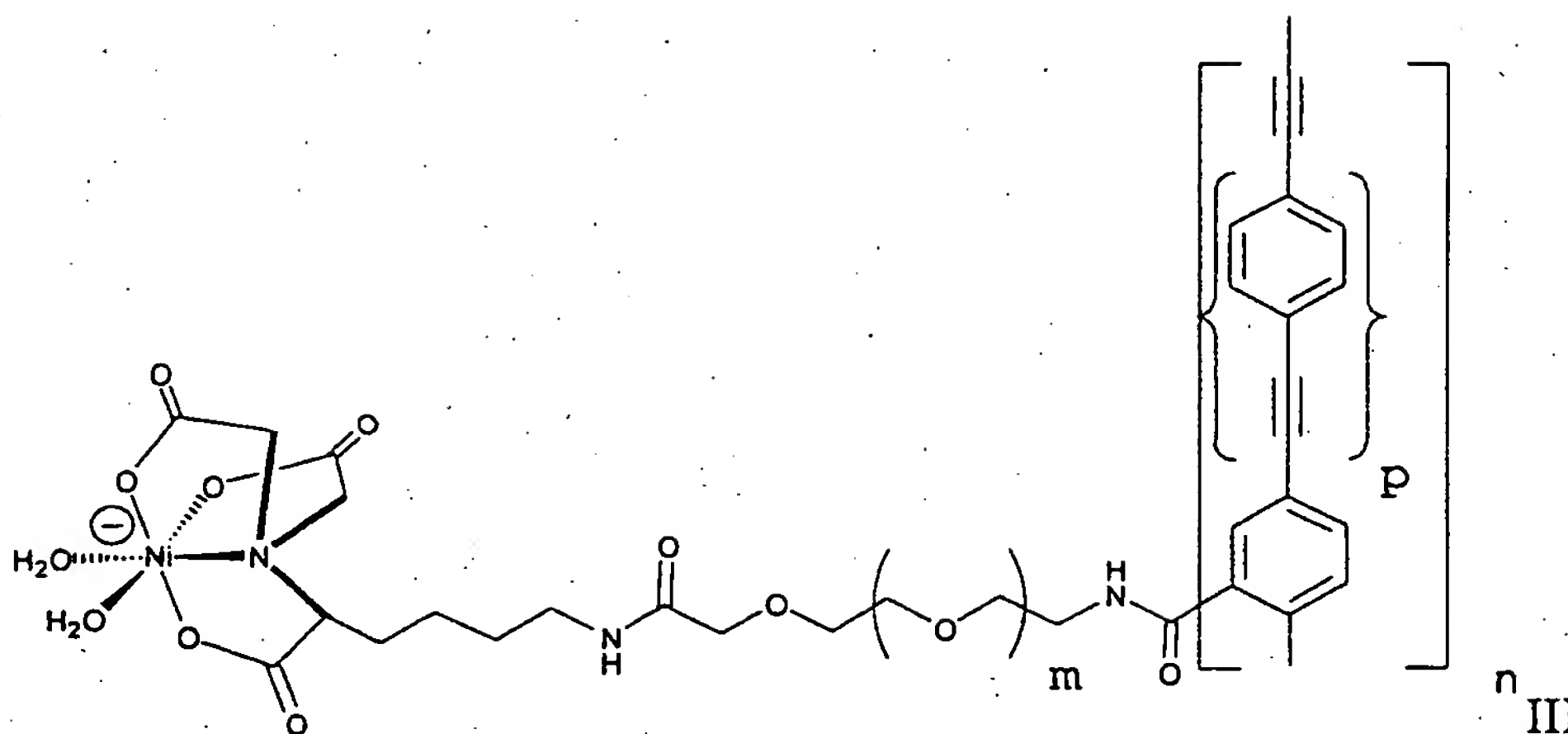
P représente le groupe *b* tel que défini ci-dessus,

GpF comprend un groupe B représenté par un groupe *f* tel que défini ci-dessus, dans lequel  $m=3$ , l'un des X représente NHCO et l'autre X représente CH<sub>2</sub>, et un groupe R représenté par un complexe organométallique à base de nickel (complexe Ni-NTA) et

*n* représente un nombre entier compris entre 5 et 1000.

Selon un autre mode de réalisation avantageux desdits bâtons moléculaires, ils présentent la formule générale III suivante :





dans laquelle :

m représente un nombre entier compris entre 1 et 10

p représente un nombre entier compris entre 0 et 10,

5

P représente le groupe *b* tel que défini ci-dessus,

GpF comprend un groupe B représenté par un groupe *h* tel que défini ci-dessus, dans lequel les deux X sont identiques et représentent NHCO, associé à un groupe R représenté par un complexe organométallique à base de nickel (complexe Ni-NTA), dont le ligand NTA est fonctionnalisé par un groupe alkyle en  $C_4=(CH_2)_4$ , et

10

n représente un nombre entier compris entre 5 et 1000.

La présente invention a également pour objet un procédé de fixation et/ou d'auto-organisation de macromolécules biologiques, caractérisé en ce qu'il comprend essentiellement l'incubation, pendant au moins 15 minutes, d'une macromolécule biologique en solution avec un bâton moléculaire, tel que défini ci-dessus,

15

dans des conditions de température et de pH convenables.

Après fixation et/ou auto-organisation des macromolécules, on obtient un objet supramoléculaire.

Dans le processus d'auto-organisation selon l'invention, l'objet supramoléculaire obtenu va éventuellement pouvoir évoluer vers un cristal hélicoïdal de macromolécules biologiques autour du bâton moléculaire.

20

Un tel procédé est particulièrement bien adapté au contrôle de la cristallisation hélicoïdale des macromolécules biologiques autour desdits bâtons moléculaires.

De manière surprenante, les bâtons moléculaires selon l'invention permettant de fixer en solution et éventuellement d'induire une auto-organisation de macromolécules biologiques, offrent d'importantes applications dans les domaines des nanomateriaux ou de la biologie structurale :

- 5                   - fixation de macromolécules biologiques sur les bâtons moléculaires en contrôlant ou non l'orientation de cette fixation ;
- contrôle de la cristallisation hélicoïdale des macromolécules biologiques autour des bâtons moléculaires ;
- étude structurale des macromolécules biologiques par analyse avec
- 10 un microscope électronique des cristaux hélicoïdaux obtenus.

Selon un mode de mise en œuvre avantageux dudit procédé, lesdites macromolécules biologiques sont notamment des protéines solubles, membranaires, trans-membranaires, des enzymes, des anticorps, des fragments d'anticorps ou des acides nucléiques.

- 15                   Selon un autre mode de mise en œuvre dudit procédé, ladite solution est constituée d'un solvant de solubilisation desdites macromolécules biologiques, aqueux ou hydroalcoolique et contenant éventuellement au moins un détergent, en fonction de la macromolécule biologique à cristalliser.

- Selon un autre mode de mise en œuvre avantageux dudit procédé, les
- 20 conditions d'incubation sont de préférence les suivantes : incubation à température ambiante, pendant 15 minutes à 48 heures, à un pH compris entre 5,5 et 8,5.

Le procédé selon la présente invention s'applique particulièrement à la détermination de structure tridimensionnelle de protéines solubles.

- La formation d'un cristal hélicoïdal d'une macromolécule biologique
- 25 comme une protéine sur un bâton moléculaire est le résultat d'un parfait accord entre les dimensions de la macromolécule (diamètre) et les paramètres du bâton (distances L1 et L2, et longueur du bâton moléculaire). La distance L1 représente la distance entre le groupe R et l'axe du polymère. La distance L2 représente la distance entre deux groupes R. La longueur du bâton moléculaire est équivalente au degré de polymérisa-
- 30 tion du polymère (voir figure 2).

De manière surprenante, ledit procédé permet d'obtenir des arrangements de macromolécules biologiques permettant des études structurales par microscopie électronique ou bien la préparation de nouveaux nano-matériaux utilisables pour leur propriétés physiques, électriques, ou biologiques.

5 La présente invention inclut par conséquent la préparation d'une librairie de bâtons moléculaires dans lesquels les distances L1 et L2 sont variables.

La présente invention a également pour objet un objet supramoléculaire, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un bâton moléculaire, tel que défini ci-dessus, sur lequel des macromolécules biologiques sont fixées de manière non-  
10 covalente ou sont organisées sous une forme cristalline.

La présente invention a, en outre, pour objet les applications dudit objet supramoléculaire, à l'étude structurale des macromolécules qui lui sont associées, en tant que réactif biologique et notamment en tant que réactif immunologique et en tant que biocapteurs ou bioconducteurs.

15 Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de mise en œuvre du procédé objet de la présente invention ainsi qu'aux dessins annexés, dans lesquels :

- la figure 1 représente un schéma descriptif d'un élément d'un bâton  
20 moléculaire selon l'invention ;

- la figure 2 illustre un bâton moléculaire selon l'invention ;

- la figure 3 représente un schéma descriptif de formation d'un cristal hélicoïdal de macromolécules biologiques sur un bâton moléculaire ;

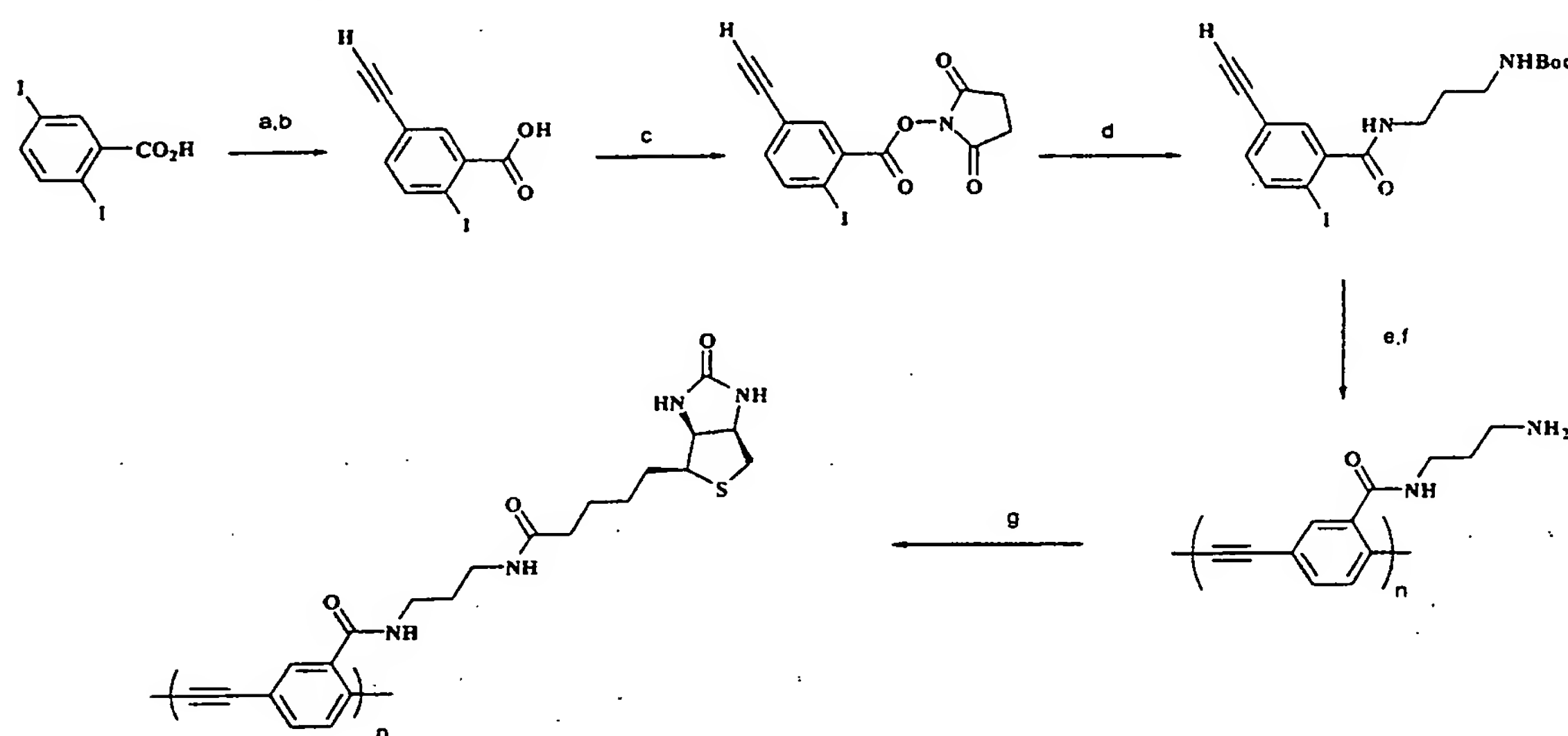
- la figure 4 illustre l'étude de la fixation de l'ABC23-(His)<sub>6</sub> de  
25 l'ARN Polymérase de levure sur un bâton moléculaire selon l'invention, par chromatographie de perméation sur une colonne Superose<sup>®</sup> 6, avec élution par un tampon Tris (10mM, pH 8 ; NaCl 150 mM) (Smart<sup>®</sup> system) ;

- la figure 5 représente une photo d'un bâton moléculaire selon l'invention.

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

**Exemple 1 : Préparation d'un bâton moléculaire biotinylé pour la fixation de streptavidine**

Dans le but de fixer et de cristalliser la streptavidine ou une streptavidine de fusion, un polymère poly-(phénylèneéthynylène) fonctionnalisé par des biotines a été préparé.



10

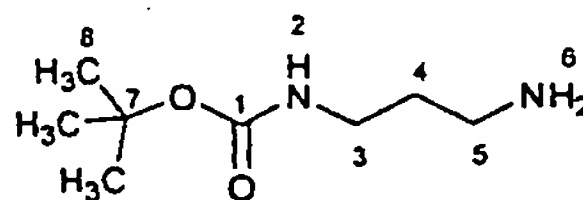
Conditions :

a. TMSA,  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ , CuI, THF/TEA ; b. KOH, MeOH ; c. NHS, DCC, THF ; d.  $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NHBoc}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TEA ; e.  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ , CuI, THF/TEA ; f. TFA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ; g. Biotine-NHS, DMF, TEA.

Protocoles expérimentaux

15

**(3-aminopropyl)-carbamate de *t*-butyle :**



**MODE OPERATOIRE**

A  $0^\circ\text{C}$ , 2,6 g de dicarbonate de *t*-butyle (11,9 mmol, 0,1 éq.), en solution dans 10 ml de MeOH, sont additionnés goutte à goutte sur 10 ml de propane diamine (120 mmol., 1 éq.) en solution dans 40 ml de MeOH. L'agitation est mainte-

nue à température ambiante pendant 15h., puis le milieu réactionnel est évaporé. Le résidu est repris dans 20 ml d'eau et 50 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, la phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub>, filtrée puis évaporée pour conduire à 1,8 g d'une huile incolore (Rdt : 87% / Boc<sub>2</sub>O), qui est utilisée dans les étapes ultérieures sans purification supplémentaire.

FB : C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

PM : 174 g/mol

CCM : R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH / TEA : 69 / 30 / 1) : 0,26 ;

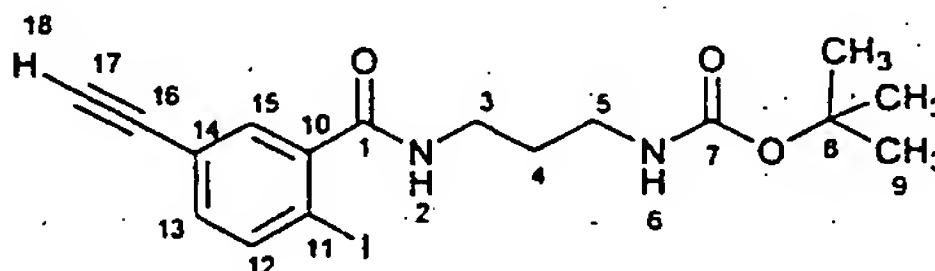
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 4,92 (sl, 1H, H<sub>2</sub>) ; 3,16 (tt, J<sub>3-4</sub> = 6,6 Hz, J<sub>3-2</sub> = 7,2 Hz, 2H, H<sub>3</sub>) ; 2,73 (t, J<sub>5-4</sub> = 6,6 Hz, 2H, H<sub>5</sub>) ; 1,57 (tt, J<sub>4-3</sub> et 4-5 = 6,6 Hz, 2H, H<sub>4</sub>) ; 1,41 (s, 9H, H<sub>8</sub>) ; 1,17 (sl, 2H, H<sub>6</sub>) ;

RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 155,88 (1C, C<sub>1</sub>) ; 78,73 (1C, C<sub>7</sub>) ; 39,42 (1C, C<sub>5</sub>) ; 38,15 (1C, C<sub>3</sub>) ; 33,16 (1C, C<sub>4</sub>) ; 28,15 (3C, C<sub>8</sub>) ;

SM (70eV/DCl/NH<sub>3</sub>/intensité %) : m/e : 175 (100, [M+1]<sup>+</sup>) ; 192 (10, [M+18]<sup>+</sup>) ;

[3-(5-éthynyl-2-iodo-benzoylamino)-propyl]-carbamate de *t*-

butyle :



### MODE OPERATOIRE

174 mg de (3-aminopropyl)-carbamate de *t*-butyle (1 mmol, 1 éq.), en solution dans 7 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et 0,5 ml de triméthylamine sont additionnés sur 369 mg de 2-iodo-5-éthynyl-benzoate de 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle (1 mmol, 1 éq.) en solution dans 7 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 48h., puis est évaporé. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice 60H (Hexane/EtOAc : 1/1) pour conduire à 416 mg d'un solide blanc avec un rendement de 97%.

FB : C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>

PM : 428 g/mol

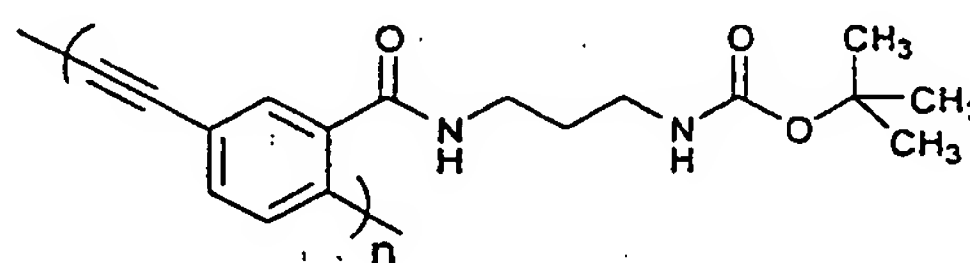
CCM : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAcH : 1 / 1) : 0,40 ;

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7,80 (d,  $J_{12-13} = 8,2$  Hz, 1H,  $\text{H}_{12}$ ) ; 7,46 (d,  $J_{15-13} = 2,0$  Hz, 1H,  $\text{H}_{15}$ ) ; 7,17 (dd,  $J_{13-12} = 8,2$  Hz,  $J_{13-15} = 2,0$  Hz, 1H,  $\text{H}_{13}$ ) ; 6,55 (sl, 1H,  $\text{H}_2$ ) ; 4,92 (sl, 1H,  $\text{H}_6$ ) ; 3,48 (tt,  $J_{3-4} = 6,2$  Hz,  $J_{3-2} = 6,0$  Hz, 2H,  $\text{H}_3$ ) ; 3,27 (tt,  $J_{5-4} = 5,7$  Hz,  $J_{5-6} = 6,4$  Hz, 2H,  $\text{H}_5$ ) ; 1,70-1,78 (m, 2H,  $\text{H}_4$ ) ; 1,41 (s, 9H,  $\text{H}_8$ ) ;

5 RMN  $^{13}\text{C}$  (75,47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  166,70 (1C,  $\text{C}_1$ ) ; 156,44 (1C,  $\text{C}_7$ ) ; 142,38 (1C,  $\text{C}_{10}$ ) ; 139,63, 133,74 (2C,  $\text{C}_{12}$ ,  $\text{C}_{13}$ ) ; 131,05 (1C,  $\text{C}_{15}$ ) ; 122,22 (1C,  $\text{C}_{14}$ ) ; 92,81 (1C,  $\text{C}_{11}$ ) ; 81,62 (1C,  $\text{C}_{16}$ ) ; 79,26, 79,17 (2C,  $\text{C}_{17}$ ,  $\text{C}_7$ ) ; 37,07, 36,42 (2C,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_3$ ) ; 29,83 (1C,  $\text{C}_4$ ) ; 28,14 (3C,  $\text{C}_8$ ) ;

SM (70eV/DCI/ $\text{NH}_3$ /intensité %) : m/e : 429 (26,  $[\text{M}+1]^+$ ) ; 446 (100,  $[\text{M}+18]^+$ ) ;

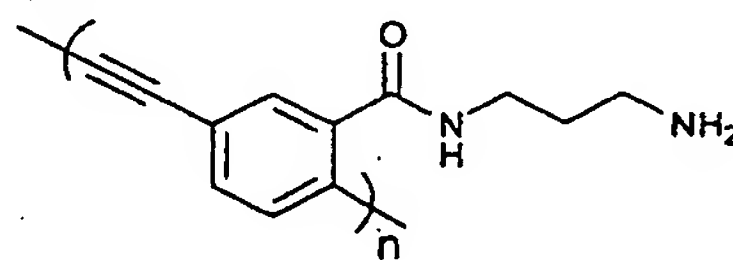
10 Polymérisation de [3-(5-éthynyl-2-iodo-benzoylamino)-propyl]-carbamate de *t*-butyle :



### MODE OPERATOIRE

350 mg de [3-(5-éthynyl-2-iodo-benzoylamino)-propyl]-carbamate de *t*-butyle (0,81 mmol, 1 éq.) sont placés dans un mélange constitué de 24,5 ml de THF et 24,5 ml de triéthylamine, puis 57 mg de palladiumbisdichlorobistriphénylphosphine (0,081 mmol, 0,1 éq.) et 57 mg d'iodure de cuivre (0,28 mmol, 0,3 éq.) sont additionnés. Le milieu réactionnel est chauffé à 50°C pendant 15h. Après être revenu à température ambiante le milieu réactionnel est versé sur 900 ml d'acétone. 160 mg de polymère, sous forme d'un solide jaune, sont récupérés par centrifugation de l'acétone.

### Hydrolyse du polymère



### MODE OPERATOIRE

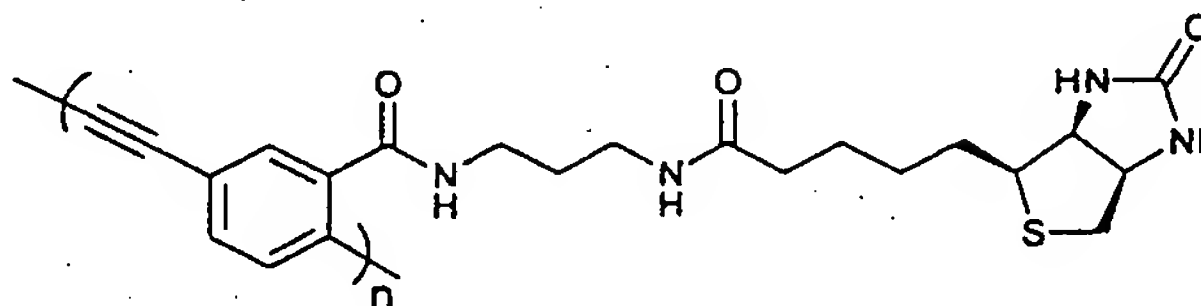
50 mg de polymère sont placés en suspension dans 1 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , puis à 0°C, 0,5 ml d'acide trifluoroacétique sont additionnés goutte à goutte, le milieu



réactionnel devient alors soluble. Après 2h. d'agitation le milieu réactionnel est évaporé, puis repris en suspension dans un mélange constitué de 1 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et 1 ml de triéthylamine. Le précipité est récupéré par centrifugation, lavé plusieurs à l'eau, puis lyophilisé.

- 5 U.V. (HCl 0,1N, 0,208mg/ml) : 348 (5856) ; 321 (5317) ; 301 (3990) ; 283 (3317) ; 201 (8519) ;

#### Couplage de la biotine



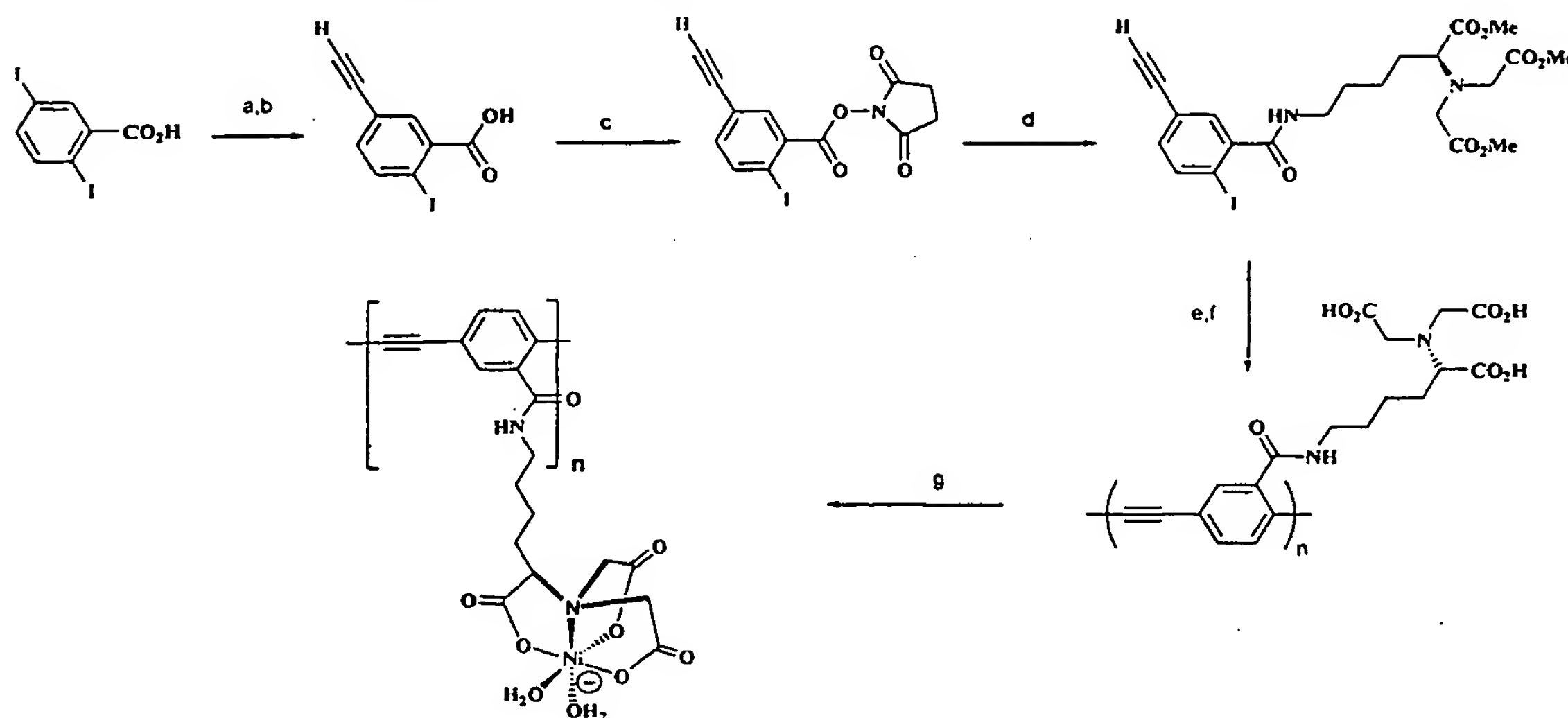
#### MODE OPERATOIRE

- 10 15 mg de polymère et 15 mg de biotine-*N*-hydroxysuccinimide sont mis en suspension dans 10 ml de DMF. Après 48h. d'agitation le milieu réactionnel est filtré, évaporé, puis repris en suspension dans une solution de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Le précipité est récupéré par centrifugation, lavé plusieurs à l'acétate d'éthyle, puis lyophilisé.

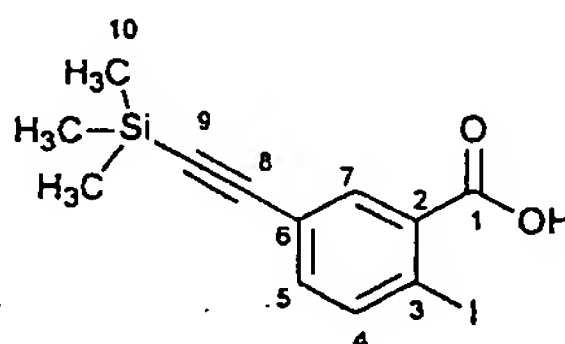
- 15 **Exemple 2 : Préparation d'un bâton moléculaire fonctionnalisé par un complexe de nickel Ni-NTA**

Dans le but de fixer et de cristalliser des macromolécules biologiques comportant une étiquette poly-histidine, nous avons préparé un polymère de type poly-(phénylèneéthynylène) fonctionnalisé par des complexes de nickel-NTA. La méthode de préparation de NTA\*, l'analogue du NTA, est identique à celle décrite par

20 C. Vénien-Brian *et al* (*J. Mol. Biol.* 1997, vol 274, pp. 687-692).

Schéma de synthèse : Préparation du polymère P0Conditions :

- a. TMSA,  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ ,  $\text{CuI}$ , THF/TEA ; b. KOH, MeOH ; c. NHS, DCC, THF ; d. NTA\*  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , TEA ; e.  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ ,  $\text{CuI}$ , THF/TEA ; f. KOH, MeOH ; g.  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Tris (10mM, pH 8).

Protocoles expérimentaux**Acide 2-iodo-5-triméthylsilanyléthynyl-benzoïque :**

10

**MODE OPERATOIRE**

- 1,12 g d'acide 2,5-diiodo-benzoïque (3mmol, 1 éq.), 210 mg de dichlorobis(triphenylphosphine palladium (II) (0,3, 0,1 éq.) et 200 mg de iodure de cuivre(I) (1 mmol, 0,34 éq.) sont mis en solution dans 60 ml d'un mélange THF/TEA (3/1). Après addition de 425  $\mu\text{l}$  de triméthylsilylacétylène (3 mmol, 1 éq.), l'agitation est poursuivie à température ambiante pendant 16 heures à l'abri de la lumière. Le milieu réactionnel est alors évaporé à sec et le résidu obtenu est purifié par flash-chromatographie sur silice 60H (Hexane / EtOAc / AcOH ; 70/30/1%) pour fournir

après séchage sous vide 754 mg d'acide 2-iodo 5-triméthylsilylanyléthynyl-benzoïque sous la forme de fines aiguilles jaunes (Rdt : 73 %).

FB : C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>IO<sub>2</sub>Si

PM : 344.221 g/mol

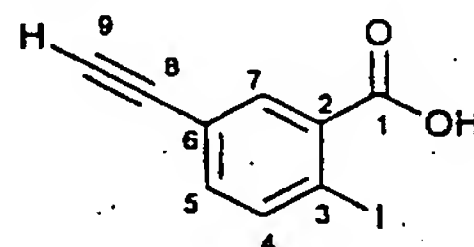
CCM : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc/AcOH : 50/50/1%) : 0,55 ;

5 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, Acétone d<sub>6</sub>) : δ 10,93 (s large, 1H, H<sub>1</sub>) ; 8,02 (d, J<sub>4-5</sub> = 8,2 Hz 1H, H<sub>4</sub>) ; 7,92 (d, J<sub>5-7</sub> = 1,8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>) ; 7,27 (dd, J<sub>4-5</sub> = 8,2 Hz, J<sub>5-7</sub> = 1,8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>) ; 0,25 (s, 9H, H<sub>10</sub>) ;

RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, Acétone d<sub>6</sub>) : δ 166,99 (1C, C<sub>1</sub>) ; 142,24 (1C, C<sub>4</sub>) ; 136,85 (1C, C<sub>2</sub>) ; 135,57 (1C, C<sub>5</sub>) ; 134,16 (1C, C<sub>7</sub>) ; 123,75 (1C, C<sub>6</sub>) ; 103,59 (1C, C<sub>3</sub>) ;  
10 97,12 (1C, C<sub>8</sub>) ; 94,52 (1C, C<sub>9</sub>) ; - 0,28 (3C, C<sub>10</sub>) ;

SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) : m/e : 362 (100, [M+18]<sup>+</sup>) ;

Acide 2-iodo-5-éthynyl-benzoïque :



### MODE OPERATOIRE

15 A une solution de 500 mg d'acide 2-iodo 5-triméthylsilylanyléthynyl-benzoïque (1,45 mmol, 1 éq.) dans 30 ml de méthanol, sont ajoutés à 0 °C, 4,5 ml d'une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium (1N). Après 2h. d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est lavé avec 2x50 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puis la phase aqueuse est réacidifié jusqu'à pH 2 par addition d'une solution  
20 molaire d'acide chlorhydrique. Après extraction avec 2x50 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, les phases organiques sont rassemblées pour fournir après séchage et évaporation 383 mg d'acide 2-iodo-5-éthynyl-benzoïque sous la forme d'un solide jaune (Rdt : 97 %).

FB : C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>IO<sub>2</sub>

PM : 272,039 g/mol

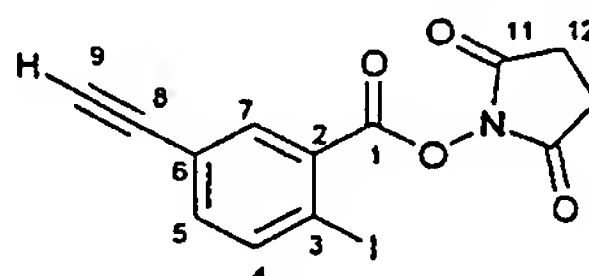
CCM : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc/AcOH : 50/50/1%) : 0,4 ;

25 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, Acétone d<sub>6</sub>) : δ 8,08 (d, J<sub>4-5</sub> = 8,1 Hz 1H, H<sub>4</sub>) ; 7,93 (d, J<sub>5-7</sub> = 1,9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>) ; 7,36 (dd, J<sub>4-5</sub> = 8,1 Hz, J<sub>5-7</sub> = 1,9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>) ; 3,87 (s, 1H, H<sub>9</sub>) ;

RMN  $^{13}\text{C}$  (75,47 MHz, Acétone  $\text{d}_6$ ) :  $\delta$  167,01 (1C,  $\text{C}_1$ ) ; 142,22 (1C,  $\text{C}_4$ ) ; 137,32 (1C,  $\text{C}_2$ ) ; 135,72 (1C,  $\text{C}_5$ ) ; 134,12 (1C,  $\text{C}_7$ ) ; 123,00 (1C,  $\text{C}_6$ ) ; 94,51 (1C,  $\text{C}_3$ ) ; 82,08 (1C,  $\text{C}_8$ ) ; 81,22 (1C,  $\text{C}_9$ ) ;

SM (70eV/DCI/ $\text{NH}_3$ /intensité %) : m/e : 290 (100,  $[\text{M}+18]^+$ ) ; 307 (66,  $[\text{M}+35]^+$ ) ;  
5 562 (8,  $[2\text{M}+18]^+$ ) ;

**2-Iodo-5-éthynyl-benzoate de 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle :**



**MODE OPERATOIRE**

A une solution de 544 mg (2 mmol, 1 équ.) d'acide 2-iodo-5-éthynyl-  
10 benzoïque et 276 mg de NHS (2,4 mmol, 1,2 équ.) dans 30 ml de THF sont ajoutés à 0°C 495 mg (2,4 mmol, 1,2 équ.) de DCC en solution dans 20 ml de THF. Le mélange est agité pendant une nuit à température ambiante. Le milieu réactionnel est alors filtré, puis évaporé. et le résidu obtenu est purifié par flash-chromatographie sur silice 60H (Hexane / EtOAc ; 70/30) pour fournir après séchage sous vide 568 mg de 2-  
15 iodo-5-éthynyl-benzoate de 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle sous la forme d'un solide jaune (Rdt : 77 %).

FB :  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{INO}_4$

PM : 369,114 g/mol

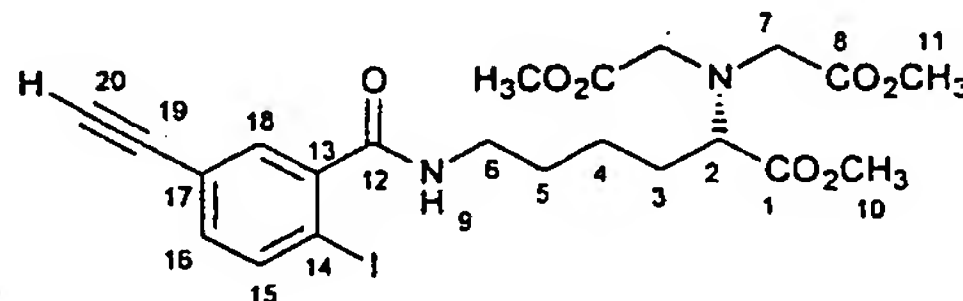
CCM :  $R_f$  (Hexane / EtOAc : 50/50) : 0,46 ;

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  8,18 (d,  $J_{5-7} = 2,4$  Hz, 1H,  $\text{H}_7$ ) ; 8,3 (d,  $J_{4-5} = 8,5$   
20 Hz 1H,  $\text{H}_4$ ) ; 7,34 (dd,  $J_{4-5} = 8,5$  Hz,  $J_{5-7} = 2,4$  Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ) ; 3,22 (s, 1H,  $\text{H}_9$ ) ; 2,91 (s, 4H,  $\text{H}_{11}$ ) ;

RMN  $^{13}\text{C}$  (75,47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  168,53 (2C,  $\text{C}_{11}$ ) ; 160,49 (1C,  $\text{C}_1$ ) ; 141,92 (1C,  $\text{C}_4$ ) ; 136,97 (1C,  $\text{C}_5$ ) ; 135,09 (1C,  $\text{C}_7$ ) ; 129,67 (1C,  $\text{C}_2$ ) ; 122,60 (1C,  $\text{C}_6$ ) ; 95,60 (1C,  $\text{C}_3$ ) ; 80,81 (1C,  $\text{C}_8$ ) ; 80,20 (1C,  $\text{C}_9$ ) ; 25,46 (2C,  $\text{C}_{12}$ ) ;

25 SM (70eV/DCI/ $\text{NH}_3$ /intensité %) : m/e : 387 (100,  $[\text{M}+18]^+$ ) ; 404 (27,  $[\text{M}+35]^+$ ) ;

**2-(Bis-méthoxycarbonylméthyl-amino)-6-(2-iodo-5-éthynyl-benzoylamino)-hexanoate de méthyle :**



**MODE OPERATOIRE**

5 A une solution de 320 mg (1,05 mmol, 1,05 éq.) de NTA\* dans 20 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sont ajoutés 1 ml de TEA et 370 mg (1 mmol, 1 éq) de 2-iodo-5-éthynyl-benzoate de 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle en solution dans 20 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le mélange est agité pendant 16 heures à température ambiante. Le milieu réactionnel est alors évaporé. pour fournir après chromatographie sur silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/TEA ;  
10 90/10/1), 380 mg de 2-(bis-méthoxycarbonylméthyl-amino)-6-(2-iodo-5-éthynyl-benzoylamino)-hexanoate de méthyle sous la forme d'une huile orange (Rdt : 68%).

**FB : C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>**

**PM : 558,372 g/mol**

**CCM : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc : 50/50) : ;**

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :** δ 7,74 (d, J<sub>15-16</sub> = 8,2 Hz 1H, H<sub>15</sub>) ; 7,41 (d, J<sub>16-18</sub> = 2,1 Hz, 1H, H<sub>18</sub>) ; 7,09 (dd, J<sub>15-16</sub> = 8,2 Hz, J<sub>16-18</sub> = 2,1 Hz, 1H, H<sub>16</sub>) ; 6,46 (t, J<sub>6-9</sub> = 5,1 Hz, 1H, H<sub>9</sub>) ; 3,62 et 3,56 (s, 13H, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>7</sub>) ; 3,38 (t, J<sub>2-3</sub> = 7,3 Hz, 1H, H<sub>2</sub>) ; 3,36 (t, J<sub>5-6</sub> = 6,6 Hz, J<sub>6-9</sub> = 5,1 Hz, 2H, H<sub>6</sub>) ; 1,40 - 1,80 (m, 6H, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ;

**RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :** δ 172,82 (1C, C<sub>1</sub>) ; 171,54 (2C, C<sub>8</sub>) ; 168,42 (1C, C<sub>12</sub>) ; 142,57 (1C, C<sub>13</sub>) ; 139,49 (1C, C<sub>15</sub>) ; 133,54 (1C, C<sub>16</sub>) ; 131,17 (1C, C<sub>18</sub>) ; 122,00 (1C, C<sub>17</sub>) ; 93,04 (1C, C<sub>14</sub>) ; 81,69 (1C, C<sub>19</sub>) ; 79,19 (1C, C<sub>20</sub>) ; 63,95 (1C, C<sub>2</sub>) ; 52,25 (2C, C<sub>7</sub>) ; 51,41 et 51,22 (3C, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>) ; 39,53 (1C, C<sub>6</sub>) ; 29,37 (1C, C<sub>3</sub>) ; 28,08 (1C, C<sub>5</sub>) ; 22,71 (1C, C<sub>4</sub>) ;

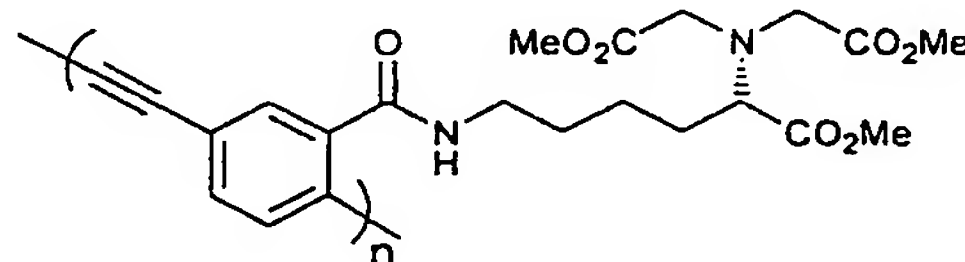
**SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) :** m/e : 631 (9, [M+1]<sup>+</sup>) ; 648 (100, [M+18]<sup>+</sup>) ;

25 **Microanalyse pour C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>7</sub> :**

Calc. : C, 47,32 ; H, 4,87 ; N, 5,02 ; O, 20,06 ; I, 22,73 ;

Exp. : C, 47,01 ; H, 4,95 ; N, 4,87

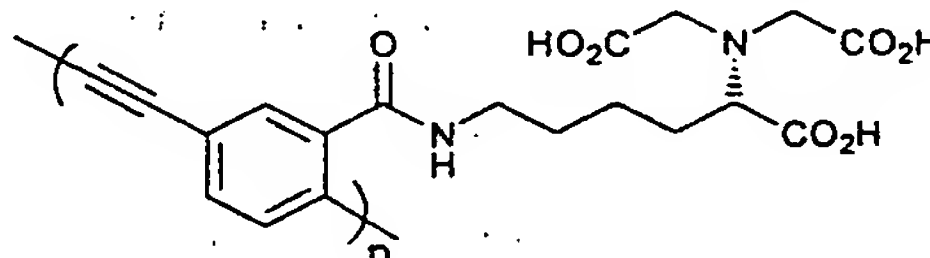
**Polymérisation de 2-(bis-méthoxycarbonylméthyl-amino)-6-(2-iodo-5-éthynyl-benzoylamino)-hexanoate de méthyle :**



### MODE OPERATOIRE

84 mg de 2-(bis-méthoxycarbonylméthyl-amino)-6-(2-iodo-5-éthynyl-benzoylamino)-hexanoate de méthyle (0,15 mmol, 1 éq.) sont placés dans un mélange constitué de 6 ml de THF et 2 ml de triéthylamine, puis 11 mg de palladiumbisdichlorobistriphénylphosphine (17  $\mu$ mol, 0,1 éq.) et 15 mg d'iodure de cuivre (79  $\mu$ mol, 0,5 éq.) sont additionnés. Le milieu réactionnel est chauffé à 50°C pendant 15h. Après être revenu à température ambiante le milieu réactionnel est versé sur 200 ml d'acétone. 55 mg de polymère, sous forme d'un solide jaune, sont récupérés par centrifugation de l'acétone.

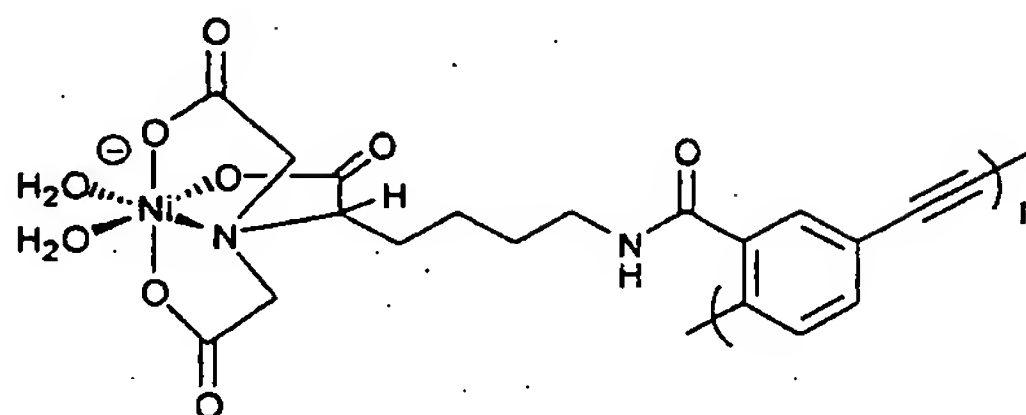
### Hydrolyse du polymère



### MODE OPERATOIRE

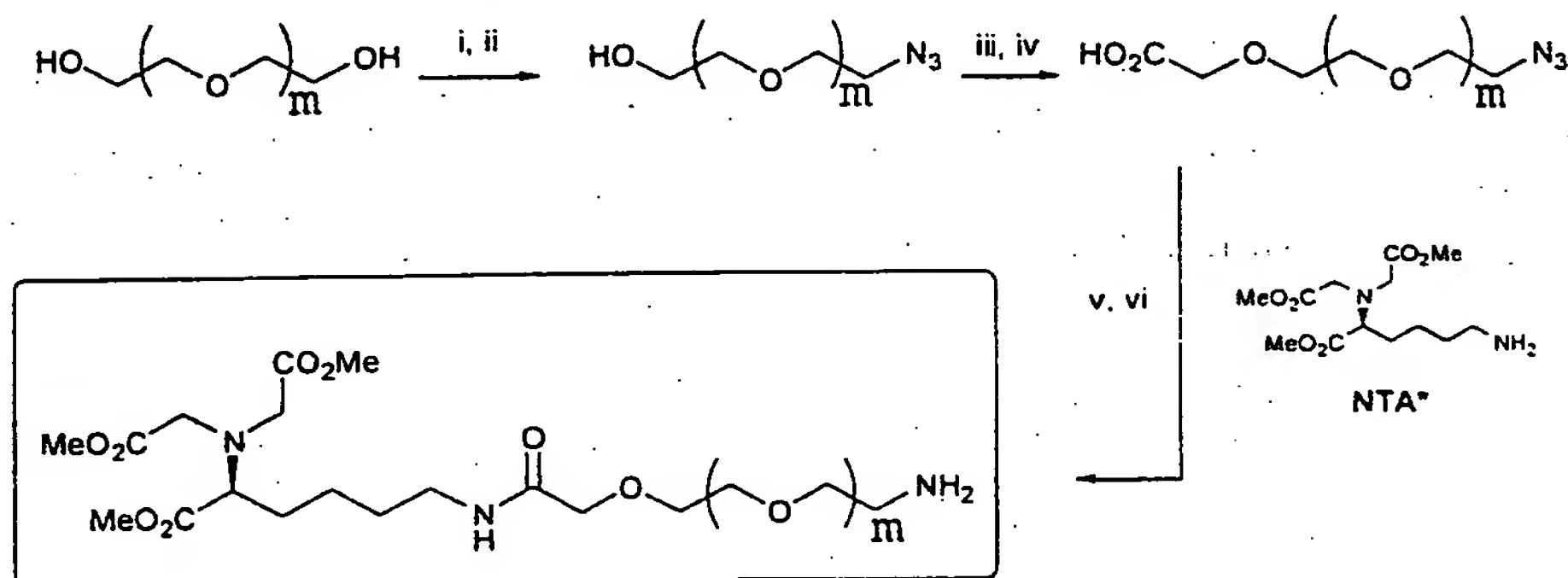
50 mg de polymère sont placés en suspension dans 5 ml de MeOH, puis à 0°C, 5 ml d'une solution molaire d'hydroxyde de potassium sont additionnés goutte à goutte. Après 96h. d'agitation le milieu réactionnel est filtré, évaporé puis repris dans un minimum d'eau. La solution obtenue est alors réacidifiée par addition lente d'une solution d'acide chlorhydrique 0,1M. Le précipité formé est récupéré par centrifugation, lavé plusieurs à l'eau, puis lyophilisé.



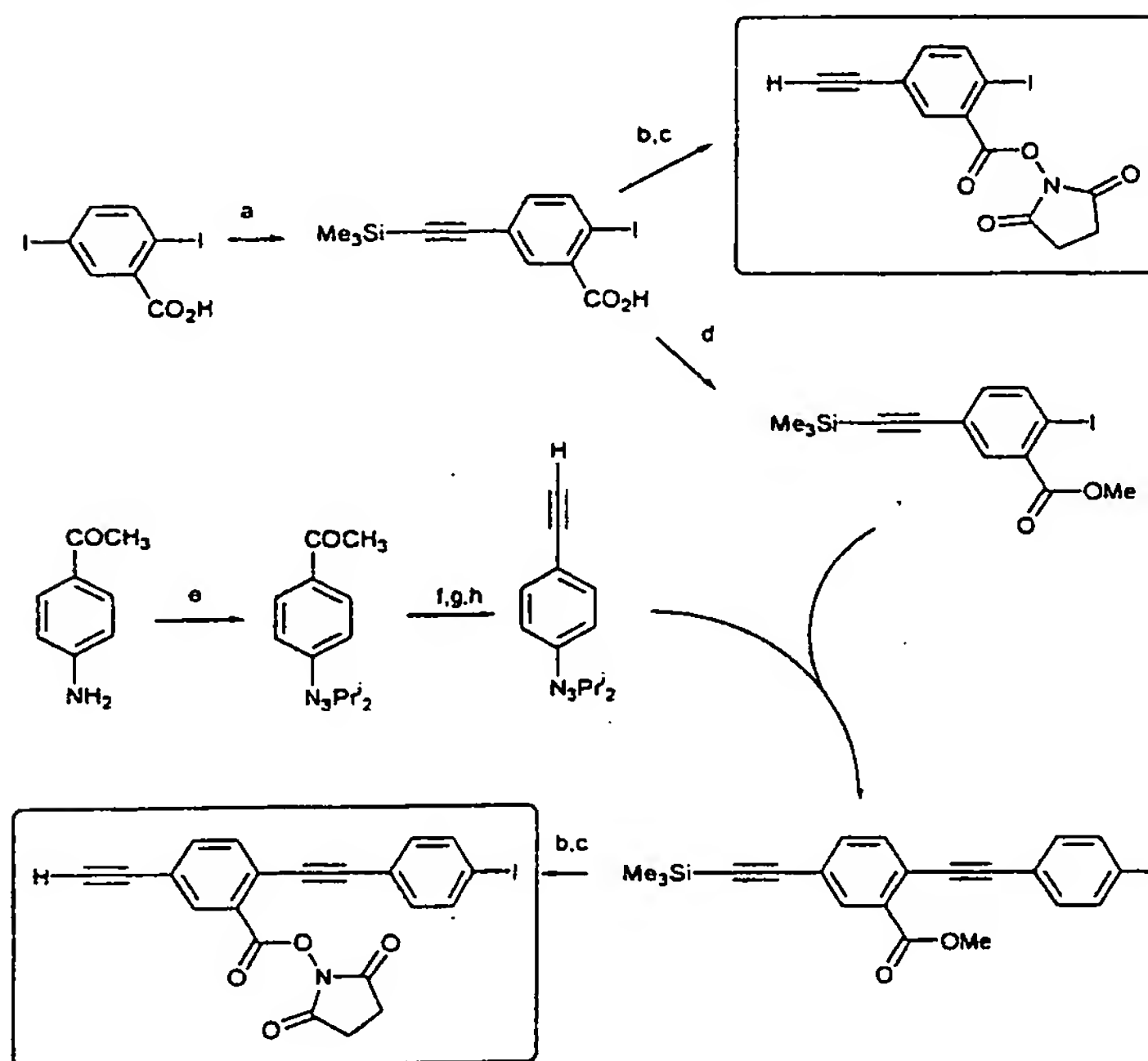
**Complexation des ions nickel :****Polymère P0****MODE OPERATOIRE**

- 5 1 mg de polymère sont mis en solution dans 5,15 ml de tampon Tris(10 mM, pH 8). 20 µl d'une solution de NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (500 mM) dans du Tris (10 mM, pH 8) sont alors additionnées à 1 ml de la solution de polymère. Après dialyse, le composé est utilisé en solution sans autre purification.

- 10 **Exemple 3 : Conception d'une librairie de bâtons moléculaires fonctionnalisés par des complexes nickel-NTA (polymère Ppm) pour la fixation de protéines étiquetées-histidine.**

**Approche synthétique pour contrôler la distance L<sub>1</sub>****Conditions :**

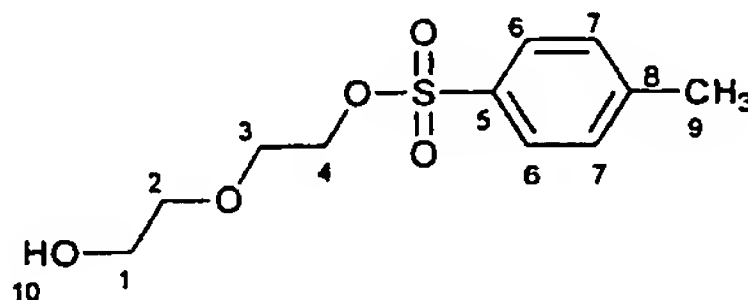
- 15 i. TsCl, TEA, THF; ii. NaN<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CN; iii. NaH, BrCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>tBu, THF;  
iv. TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; v. SOCl<sub>2</sub>/ TEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; vi. H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH.

Approche synthétique pour contrôler la distance  $L_2$ Conditions :

- a. TMSA,  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ , CuI, THF/TEA; b. KOH, MeOH; c. NHS, DCC, THF; d. MeOH, EDC, HOBT, THF; e. HCl,  $\text{NaNO}_2$  /  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{HNPr}_2$ ; f. LDA,  $\text{ClPO}(\text{OEt})_2$ ; g. LDA (2eq.),  $\text{Me}_3\text{SiCl}$ ; h.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH; i.  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ , CuI, THF/TEA; j. MeI.

Protocoles expérimentaux

Les protocoles expérimentaux de polymérisation et d'hydrolyse sont identiques à ceux décrits pour le bâton P0.

Préparation du monomère pour le bâton P<sub>10</sub>**Toluène-4-sulfonate de 2-(2-hydroxy-éthoxy)éthyle :****MODE OPERATOIRE**

50 ml de diéthylèneglycol (0,5 mol, 10 éq.) et 10 g de chlorure de tosylo (0,05 mol, 1 éq.) sont mis en solution dans 200 ml de dichlorométhane. Après avoir additionné goutte à goutte 7,3 ml de triéthylamine (0,05 mol, 1 éq.), le milieu

réactionnel est agité pendant 16 heures à température ambiante. Après hydrolyse avec 100 ml d'eau, le milieu réactionnel est extrait deux fois avec 100 ml de dichlorométhane, la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée pour conduire à un résidu qui est purifié par flash-chromatographie sur silice  
 5 60H (Hexane/EtOAc : 40/60). 13,4 g de O-tosyldiéthylèneglycol sont obtenus sous la forme d'une huile légère incolore (Rdt : 99% / TsCl).

**FB** : C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>S

**PM** : 260,2 g/mol

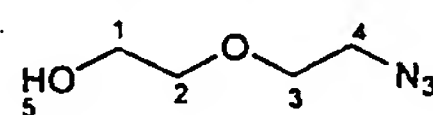
**CCM** : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc : 7 / 3) : 0,32

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** : δ 7,78 (d, J<sub>6-7</sub> = 8,1 Hz, 2H, H<sub>6</sub>) ; 7,33 (d, J<sub>7-6</sub> = 8,1  
 10 Hz 2H, H<sub>7</sub>) ; 4,18 (t, J<sub>4-3</sub> = 3,2 Hz, 2H, H<sub>4</sub>) ; 3,69-3,63 (m, 4H, H<sub>2-3</sub>) ; 3,51 (t, J<sub>1-2</sub> = 3,2 Hz, 2H, H<sub>1</sub>) ; 2,43 (s, 3H, H<sub>9</sub>) ; 1,98 (sl, 1H, H<sub>10</sub>) ;

**RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** : δ 144,70 (1C, C<sub>8</sub>) ; 132,82 (1C, C<sub>5</sub>) ; 129,60 (2C, C<sub>6</sub>) ; 127,69 (2C, C<sub>7</sub>) ; 72,24 (1C, C<sub>2</sub>) ; 68,91 (1C, C<sub>3</sub>) ; 68,35 (1C, C<sub>4</sub>) ; 61,40 (1C, C<sub>1</sub>) ; 21,33 (1C, C<sub>9</sub>) ;

15 **SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %)** : m/e : 278 (100, [M+18]<sup>+</sup>) ;

**2-(2-azido-éthoxy)-éthanol 16a :**



### MODE OPERATOIRE

12,27 g de toluène-4-sulfonate de 2-(2-hydroxy-éthoxy)éthyle (0,047  
 20 mol, 1 éq.) sont mis en solution dans 200 ml d'acétonitrile, puis 3,67 g d'azoture de sodium (0,056 mol, 1,2 éq.) sont additionnés. Le milieu réactionnel est chauffé à 80°C pendant 16 heures. Après hydrolyse avec 100 ml d'eau, le milieu réactionnel est extrait deux fois avec 100 ml d'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée pour conduire à 3,9 g d'une huile légère incolore  
 25 (Rdt : 63%).

**FB** : C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>

**PM** : 131 g/mol

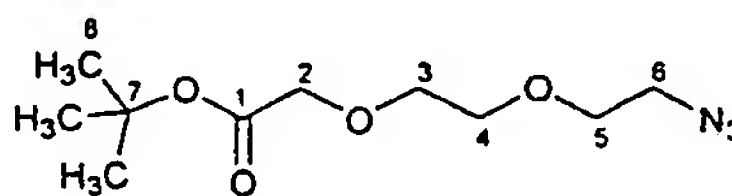
**CCM** : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc : 1/1) : 0,28;

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  3,72 (t,  $J_{2-1} = 4,7$  Hz, 2H,  $\text{H}_2$ ) ; 3,66 (t,  $J_{3-4} = 4,8$  Hz 2H,  $\text{H}_3$ ) ; 3,58 (t,  $J_{1-2} = 4,7$  Hz, 2H,  $\text{H}_1$ ) ; 3,38 (t,  $J_{4-3} = 4,8$  Hz, 2H,  $\text{H}_4$ ) ; 2,32 (sl, 1H,  $\text{H}_5$ ) ;

RMN  $^{13}\text{C}$  (75,47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  72,19 (1C,  $\text{C}_2$ ) ; 69,82 (1C,  $\text{C}_3$ ) ; 61,53 (1C,  $\text{C}_1$ )†; 50,49 (1,  $\text{C}_4$ ) ;

SM (70eV/DCI/ $\text{NH}_3$ /intensité %) : m/e : 149 (100,  $[\text{M}+18]^+$ ) ;

[2-(2-azido-éthoxy)-éthoxy]-acétate de *t*-butyle **19a** :



### MODE OPERATOIRE

1,42 g d'hydrure de sodium (0,035 mol, 1,2 éq.) sont mis en suspension dans 30 ml de tétrahydrofurane, puis à 0°C, 3,89 g de **16a** (0,029 mol, 1 éq.) en solution dans 10 ml de tétrahydrofurane sont additionnés goutte à goutte. L'agitation est maintenue à cette température pendant un demi-heure avant d'ajouter lentement 8,71 ml de bromo-acétate de *t*-butyle (0,059 mol, 2 éq.). La température est remontée lentement et l'agitation est maintenue pendant une nuit. Le milieu réactionnel est hydrolysé avec 50 ml d'eau puis ce dernier est concentré pour conduire à un résidu qui est purifié par flash-chromatographie sur silice 60H (Hexane/EtOAc : 70/30). 3,95 g de produit sont récupérés sous la forme d'une huile légèrement jaune avec un rendement de 55%.

FB :  $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}_3$

PM : 245 g/mol

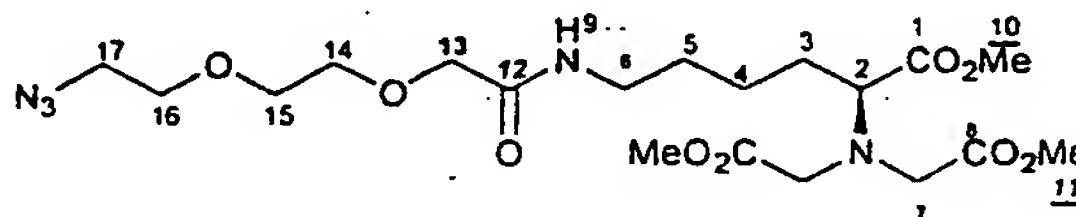
CCM :  $R_f$  (Hexane / EtOAc : 7 / 3) : 0,47 ;

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  4,02 (s, 2H,  $\text{H}_2$ ) ; 3,70-3,66 (m, 6H,  $\text{H}_{3,4,5}$ ) ; 3,39 (t,  $J_{6-5} = 5,0$  Hz, 2H,  $\text{H}_6$ ) ; 1,46 (s, 9H,  $\text{H}_8$ ) ;

RMN  $^{13}\text{C}$  (75,47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  169,37 (1C,  $\text{C}_1$ ) ; 81,33 (1C,  $\text{C}_7$ ) ; 70,55-70,49 (2C,  $\text{C}_{3\text{et}4}$ ) ; 69,81 (1C,  $\text{C}_5$ ) ; 68,90 (1C,  $\text{C}_2$ ) ; 50,46 (1C,  $\text{C}_6$ ) ; 27,86 (3C,  $\text{C}_8$ ) ;

SM (70eV/DCI/ $\text{NH}_3$ /intensité %) : m/e : 207 (15,  $[\text{M}+1]^+$ ) ; 263 (100,  $[\text{M}+18]^+$ ) ;

**6-(2-[2-(2-azido-éthoxy)]-acétylamino)-2-(bis-méthoxycarbonyl)  
(méthyl-amino)-hexanoate de méthyle 20a :**



**MODE OPERATOIRE**

5            3,95 g de 19a (0,016 mol, 1 éq.) sont mis en solution dans 20 ml de dichlorométhane puis 10 ml d'acide trifluoroacétique sont additionnés goutte à goutte. Après avoir agité le milieu réactionnel à 60°C pendant deux heures, celui-ci est évaporé à sec. Le résidu obtenu est ensuite repris dans 4 ml de chlorure de thionyle et agité pendant une heure à température ambiante. Le milieu est de nouveau évaporé à  
10 sec, repris deux fois avec 4 ml de dichlorométhane puis réévaporé. Le chlorure d'acide ainsi formé est repris dans 10 ml de dichlorométhane puis 6,43 g de tête polaire NTA\* (0,016 mol, 1 éq.) en solution dans 10 ml de dichlorométhane et 4,46 ml de triéthylamine (0,032 mol, 2 éq.) sont additionnés. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit puis évaporé à sec pour conduire à un résidu  
15 qui purifié par flash-chromatographie sur silice 60H (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 3/97). 1,84 g de produit sont obtenus sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 25%.

**FB :** C<sub>19</sub>H<sub>33</sub>O<sub>9</sub>N<sub>5</sub>

**PM :** 475 g/mol

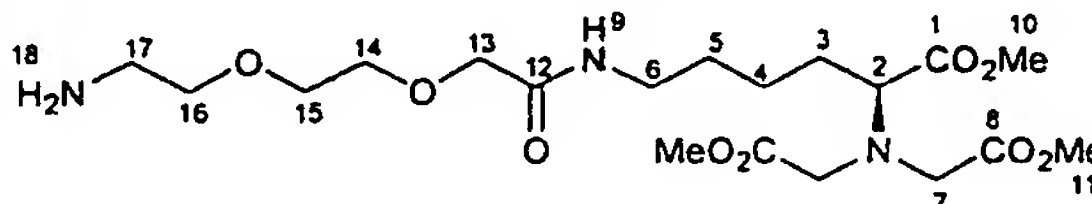
**CCM :** R<sub>f</sub> (EtOAc pur) : 0,34 ;

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :** δ 6,79 (tl, J<sub>9-6</sub> = 5,3 Hz, 1H, H<sub>9</sub>) ; 3,88 (s, 2H, H<sub>13</sub>) ;  
20 3,59-3,62 (m, 15H, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>15</sub>, H<sub>15</sub>, H<sub>16</sub>) ; 3,54 (s, 4H, H<sub>7</sub>) ; 3,29-3,34 (m, 3H, H<sub>2</sub>, H<sub>17</sub>) ; 3,18 (dt, J<sub>6-5</sub> = 6,5 Hz, J<sub>6-9</sub> = 5,3 Hz, 2H, H<sub>6</sub>) ; 1,27-1,65 (m, 6H, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ;

**RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :** δ 172,68 (1C, C<sub>1</sub>) ; 171,42 (2C, C<sub>8</sub>) ; 169,29 (1C, C<sub>12</sub>) ; 70,52 (1C, C<sub>15</sub>) ; 70,20 (1C, C<sub>13</sub>) ; 69,91 (1C, C<sub>14</sub>) ; 69,75 (1C, C<sub>16</sub>) ; 64,35  
25 (1C, C<sub>2</sub>) ; 52,10 (2C, C<sub>7</sub>) ; 51,27 et 50,30 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>) ; 51,06 (1C, C<sub>17</sub>) ; 38,30 (1C, C<sub>6</sub>) ; 29,74 (1C, C<sub>3</sub>) ; 28,94 (1C, C<sub>5</sub>) ; 22,93 (1C, C<sub>4</sub>) ;

**SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) :** m/e : 476 (100, [M+1]<sup>+</sup>) ;

6-(2-[2-amino-éthoxy)-éthoxy]-acétylamino)-2-(bis-méthoxy carbonylméthyl-amino)-hexanoate de méthyle **21a** :



### MODE OPERATOIRE

5 1,84 g de **20a** (3,88 mmol., 1 éq.) sont mis en solution dans 30 ml de méthanol, puis 184 mg de palladium sur charbon (10% en masse) sont additionnés. Le milieu réactionnel est purgé trois fois avec de l'hydrogène puis abandonné à température ambiante durant une nuit sous une atmosphère d'hydrogène. Après avoir filtré sur célite le palladium, le filtrat est évaporé pour conduire à 1,70 g (Rdt : 97%)  
 10 d'une huile jaune qui est utilisée dans les étapes ultérieures sans purification supplémentaire.

FB : C<sub>19</sub>H<sub>35</sub>O<sub>9</sub>N<sub>3</sub>

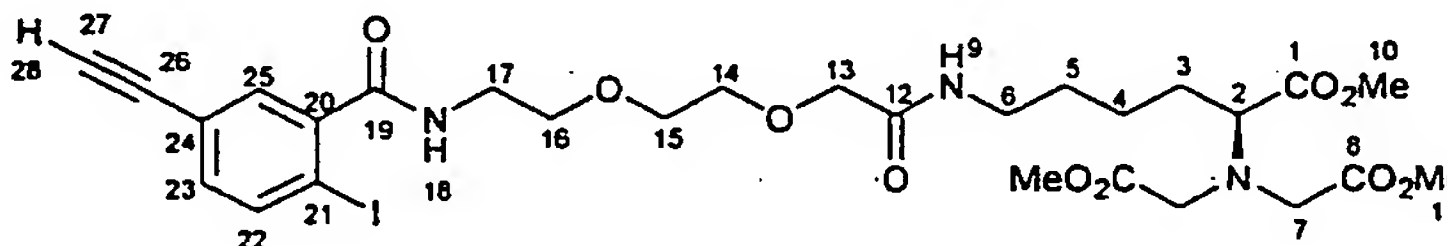
PM : 449 g/mol

CCM : R<sub>f</sub> (MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 1 / 9) : 0,17 ;

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 6,92 (sl, 1H, H<sub>9</sub>) ; 3,85 (s, 2H, H<sub>13</sub>) ; 3,55-3,13 (m,  
 15 26H, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>7</sub>, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>, H<sub>14</sub>, H<sub>15</sub>, H<sub>16</sub>, H<sub>17</sub>) ; 1,24-1,62 (m, 6H, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ;

SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) : m/e : 450 (100, [M+1]<sup>+</sup>) ;

2-(bis-méthoxycarbonylméthyl-amino)-6-(2-[2-(2-(5-éthynyl-2-iodo-benzoylamino)-éthoxy)-éthoxy]-acétylamino)-hexanoate de méthyle **22a** :



20

### MODE OPERATOIRE

150 mg de 2-iodo-5-éthynyl-benzoate de 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yle (0,33 mmol., 1 éq.) en solution dans 5 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et 0,2 ml de triéthylamine sont cannulés sur 123 mg de **21a** (0,33 mmol., 1 éq.) placé en solution dans 2 ml de  
 25 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 24h, puis évaporé. Le résidu est chromatographié sur gel de silice 60H (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 3/97) pour conduire à 145 mg d'une huile légèrement jaune avec un rendement de 62%.



FB : C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>O<sub>10</sub>N<sub>3</sub>I

PM : 703 g/mol

CCM : R<sub>f</sub> (MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 1 / 9) : 0,50 ;

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7,79 (d, J<sub>23-25</sub> = 8,1 Hz, 1H, H<sub>23</sub>) ; 7,45 (d, J<sub>25-23</sub> = 1,5 Hz, 1H, H<sub>25</sub>) ; 7,15 (dd, J<sub>23-25</sub> = 1,5 Hz et J<sub>23-22</sub> = 8,1 Hz 1H, H<sub>23</sub>) ; 6,76 (tl, 1H, H<sub>9</sub>) ; 6,50 (tl, 1H, H<sub>18</sub>) ; 4,11 (s, 2H, H<sub>13</sub>) ; 3,58-3,96 (m, 17H, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>14</sub>, H<sub>15</sub>, H<sub>16</sub>) ; 3,51 (s, 4H, H<sub>7</sub>) ; 3,20-3,41 (m, 5H, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>17</sub>) ; 3,17 (s, 1H, H<sub>28</sub>) ; 1,44-1,71 (m, 6H, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ;

RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 172,75 (1C, C<sub>19</sub>) ; 171,64 (1C, C<sub>1</sub>) ; 171,49 (1C, C<sub>8</sub>) ; 169,38 (1C, C<sub>12</sub>) ; 142,14 (1C, C<sub>20</sub>) ; 139,69 (1C, C<sub>25</sub>) ; 133,86 (1C, C<sub>22</sub>) ; 131,21 (1C, C<sub>23</sub>) ; 122,25 (1C, C<sub>24</sub>) ; 115,97 (1C, C<sub>21</sub>) ; 92,71 (1C, C<sub>26</sub>) ; 79,45 (1C, C<sub>27</sub>) ; 70,65 (1C, C<sub>15</sub>) ; 70,36 (1C, C<sub>13</sub>) ; 69,87 (1C, C<sub>14</sub>) ; 69,41 (1C, C<sub>16</sub>) ; 64,36 (1C, C<sub>2</sub>) ; 52,39 ; 51,16 (2C, C<sub>7</sub>) ; 52,16 ; 51,37 (3C, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>) ; 39,46 (1C, C<sub>17</sub>) ; 39,37 (1C, C<sub>6</sub>) ; 29,77 (1C, C<sub>3</sub>) ; 28,95 (1C, C<sub>5</sub>) ; 22,98 (1C, C<sub>4</sub>) ;

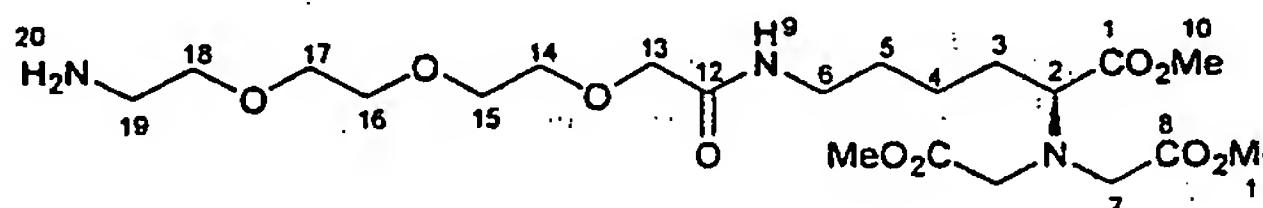
SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) : m/e : 704 (100, [M+1]<sup>+</sup>) ; 721 (36, [M+18]<sup>+</sup>)15 Microanalyse pour C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub>I :

Calc. : C, 47,80 ; H, 5,44 ; N, 5,97 ; O, 22,74 ; I, 18,03

Exp. : C, 47,75 ; H, 5,71 ; N, 5,72 ;

Préparation du monomère pour le bâton P<sub>21</sub>

6-(2-(2-[2-(2-amino-éthoxy)-éthoxy]-éthoxy)-acétylamino)-2-(méthoxycarbonylméthyl-amino)-hexanoate de méthyle **21b** :

**MODE OPERATOIRE**

Protocole identique à celui utilisé pour la préparation du produit **21a** en démarrant la synthèse à partir du triéthylène glycol.

25 FB : C<sub>21</sub>H<sub>39</sub>O<sub>10</sub>N<sub>3</sub>

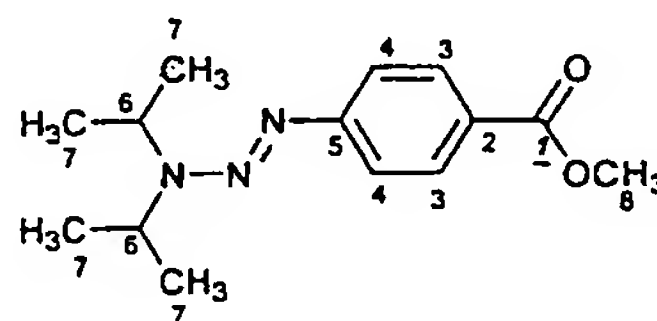
PM : 493 g/mol

CCM : R<sub>f</sub> (MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / TEA : 1 / 9 / 0,1) : 0,27 ;

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :**  $\delta$  4,59 (sl, 3H, H<sub>9</sub>, H<sub>20</sub>) ; 3,94 (s, 2H, H<sub>13</sub>) ; 3,10-3,61 (m, 28H, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>7</sub>, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>14</sub>, H<sub>15</sub>, H<sub>16</sub>, H<sub>17</sub>, H<sub>18</sub>, H<sub>19</sub>) ; 1,19-1,62 (m, 6H, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>)

**SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) :** m/e : 494 (100, [M+1]<sup>+</sup>) ;

5 **4-(diisopropyltriazenyl)acétophénone 25 :**



**MODE OPERATOIRE**

1g (7,4 mmol) de 4-aminoacétophénone sont mis en solution dans un mélange constitué de 30 ml d'eau et 5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après  
10 avoir placé le milieu réactionnel à 0°C, 520 mg (7,54 mmol, 1,02 éq.) de nitrite de sodium en solution dans 1 ml d'eau sont additionnés. Après 30 min. d'agitation, le milieu réactionnel est additionné prudemment sur une solution composée de 8g de carbonate de potassium et de 8,17 ml (5,82 mmol, 7,8 éq.) de diisopropylamine dans 50 ml d'eau, placée à 0°C. L'agitation est maintenue à cette température pendant 30  
15 min. puis le milieu réactionnel est hydrolysé avec 50 ml d'eau et la phase aqueuse est extraite quatre fois avec 50 ml d'éther éthylique. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée pour conduire à un résidu qui est chromatographié sur gel de silice 60H (AcOEt/Hexane : 2/8) pour conduire à 1,18 g d'une poudre jaune avec un rendement de 64%.

20 **FB :** C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

**PM :** 247,33g/mol

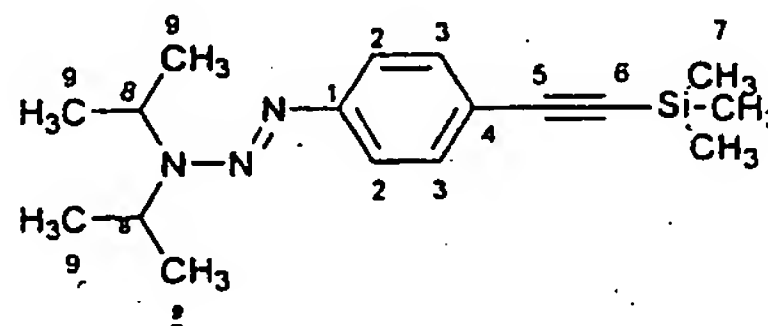
**CCM :** R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc : 9/1) : 0,40 ;

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  7,92 (d, J<sub>3-4</sub> = 8,6 Hz, 2H, H<sub>3</sub>) ; 7,44 (d, J<sub>4-3</sub> = 8,6 Hz, 2H, H<sub>4</sub>) ; 5,33 (sl, 1H, H<sub>6</sub>) ; 4,03 (sl, 1H, H<sub>6</sub>) ; 2,57 (s, 3H, H<sub>3</sub>) ; 1,37 (dl, 6H, H<sub>7</sub>) ; 1,24 (dl, 6H, H<sub>7</sub>) ;

25 **RMN  $^{13}\text{C}$  (75,47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :**  $\delta$  197,17 (1C, C<sub>1</sub>) ; 155,32 (1C, C<sub>5</sub>) ; 133,11 (1C, C<sub>2</sub>) ; 129,30 (2C, C<sub>3</sub>) ; 119,82 (2C, C<sub>4</sub>) ; 49,17 (1C, C<sub>6</sub>) ; 46,17 (1C, C<sub>6</sub>) ; 26,23 (1C, C<sub>8</sub>) ; 23,63, 19,11 (4C, C<sub>7</sub>) ;

SM (70eV/DCI/NH3/intensité %) : m/e : 248 (100, [M+1]<sup>+</sup>) ;

**1-(Diisopropyltriazényl)-4-((triméthylsilyl)éthynyl)benzène 26 :**



**MODE OPERATOIRE**

5 8,62 g (34,9 mmol, 1 éq.) de 4-(diisopropyltriazényl)acétophénone en solution dans 30 ml de THF sont additionnés goutte à goutte, à -78°C, sur 1,03 éq. de LDA, formée, à 0°C, à partir de 5,17 ml de diisopropylamine (36,9 mmol, 1,06 éq.) et de 22,4 ml de BuLi 1,6M dans l'hexane (35,9 mmol, 1,03 éq.) dans 38,5 ml de THF. Le milieu réactionnel est agité à -78°C pendant une heure, puis 5,04 ml de  
10 chlorophosphate de diéthyle (34,9 mmol, 1 éq.) sont additionnés goutte à goutte et la température est remontée jusqu'à l'ambiante. Après 3 heures d'agitation, cette solution est additionnée sur 2,25 éq. de LDA, formée, à 0°C, à partir de 11 ml de diisopropylamine (78,5 mmol, 2,25 éq.) et de 49 ml de BuLi 1,6M dans l'hexane (78,5 mmol, 2,25 éq.) dans 80 ml de THF. Le milieu réactionnel est abandonné pendant la  
15 nuit, au cours de laquelle la température remonte lentement. Après avoir placé le ballon à 0°C, 4,86 ml de chlorure de triméthylsilyle (38,3 mmol, 1,1 éq.) sont additionnés, l'agitation est maintenue pendant 15 min., puis on hydrolyse avec 100 ml d'eau. La phase aqueuse est extraite trois fois avec 100 ml d'éther éthylique, puis la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée. Le résidu  
20 obtenu est purifié par flash chromatographie sur gel de silice 60H (Hexane pur) pour conduire à 6,08 g de 1-(diisopropyltriazényl)-4-((triméthylsilyl)éthynyl)benzène avec un rendement de 58%.

FB : C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>Si

PM : 301 g/mol

CCM : R<sub>f</sub> (Hexane) : 0,30 ;

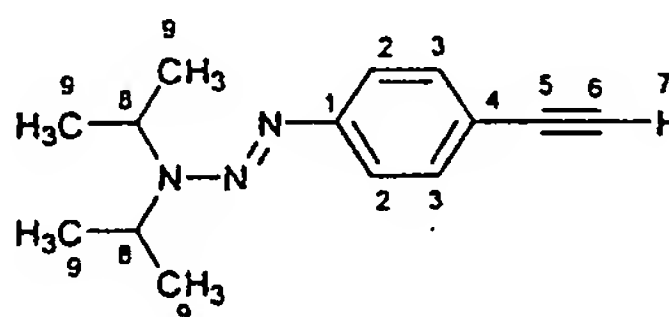
25 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7,40 (d, J<sub>2-3</sub> = 8,5 Hz, 2H, H<sub>2</sub>) ; 7,32 (d, J<sub>3-2</sub> = 8,5 Hz, 2H, H<sub>3</sub>) ; 5,33 (sl, 1H, H<sub>8</sub>) ; 4,03 (sl, 1H, H<sub>8</sub>) ; 1,29 (sl, 12H, H<sub>9</sub>) ; 0,24 (s, 9H, H<sub>7</sub>) ;

RMN  $^{13}\text{C}$  (75,47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  151,45 (1C,  $\text{C}_1$ ) ; 132,42 (2C,  $\text{C}_2$ ) ; 119,82 (2C,  $\text{C}_3$ ) ; 118,66 (1C,  $\text{C}_4$ ) ; 105,72 (1C,  $\text{C}_6$ ) ; 93,05 (1C,  $\text{C}_5$ ) ; 48,13, 46,17 (2C,  $\text{C}_8$ ) ; 23,80, 19,11 (4C,  $\text{C}_9$ ) ; -0,15 (3C,  $\text{C}_7$ ) ;

SM (70eV/DCI/ $\text{NH}_3$ /intensité %) : m/e : 302 (100,  $[\text{M}+1]^+$ ) ;

5

**1-(Diisopropyltriazényl)-4-éthynylbenzène 27 :**



**MODE OPERATOIRE**

6 g de 1-(diisopropyltriazényl)-4-((triméthylsilyl)éthynyl)benzène (19,9 mmol, 1 éq.) sont mis en solution dans 100 ml de MeOH et 13,7 g de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (99,5 mmol, 5 éq.) sont additionnés petit à petit. Après avoir agité le milieu réactionnel à température ambiante pendant 15h., celui-ci est évaporé à sec, repris avec 100 ml d'eau et 100ml d'EtOAc. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec 50 ml d'EtOAc, puis la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée pour conduire à 4,38 g de 1-(diisopropyltriazényl)-4-éthynylbenzène, avec un rendement de 96%.

15

FB :  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3$

PM : 229g/mol

CCM :  $R_f$  (Hexane pur) : 0,30 ;

20

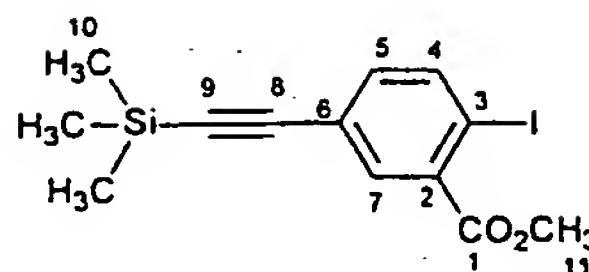
RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7,46 (d,  $J_{2-3} = 8,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_2$ ) ; 7,37 (d,  $J_{3-2} = 8,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_3$ ) ; 5,33 (sl, 1H,  $\text{H}_8$ ) ; 4,03 (sl, 1H,  $\text{H}_8$ ) ; 3,06 (s, 1H,  $\text{H}_7$ ) ; 1,29 (sl, 12H,  $\text{H}_9$ ) ;

RMN  $^{13}\text{C}$  (75,47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  151,75 (1C,  $\text{C}_1$ ) ; 132,57 (2C,  $\text{C}_2$ ) ; 119,95 (2C,  $\text{C}_3$ ) ; 117,56 (1C,  $\text{C}_4$ ) ; 84,14 (1C,  $\text{C}_5$ ) ; 76,28 (1C,  $\text{C}_6$ ) ; 48,68, 45,75 (2C,  $\text{C}_8$ ) ; 23,61, 19,28 (4C,  $\text{C}_9$ ) ;

SM (70eV/DCI/ $\text{NH}_3$ /intensité %) : m/e : 230 (100,  $[\text{M}+1]^+$ ) ;

25

**2-iodo-4-triméthylsilanyléthynyl-benzoate de méthyle 28 :**



### MODE OPERATOIRE

2,6 g d'acide 2-iodo-5-((triméthylsilyl)éthynyl)benzoïque (7,56 mmol, 1 éq.) sont mis en solution dans 50 ml de THF puis 2,17 g de *N*-éthyl-*N'*-(3-diméthylaminopropyl)-carbodiimide (EDC) (11,3 mmol, 1,5 éq.) et 1,52 g d'hydroxybenzotriazole ou HOBT (11,3 mmol, 1,5 éq.) sont additionnés, enfin 18 ml de MeOH sont additionnés goutte à goutte. Après avoir agité le milieu réactionnel à température ambiante pendant 4h., celui-ci est évaporé à sec, repris avec 50 ml d'eau et 50 ml d'EtOAc. La phase organique est lavée avec 25 ml d'une solution aqueuse à 5% en KHSO<sub>4</sub>, 25 ml d'une solution aqueuse à 5% en NaHCO<sub>3</sub>, et 25 ml d'une solution aqueuse saturée en NaCl. Elle est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée pour conduire à 2,93 g d'une huile jaune (Rdt : quantitatif) qui est utilisée sans purification supplémentaire dans les étapes ultérieures.

FB : C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub>ISi

PM : 357,9 g/mol

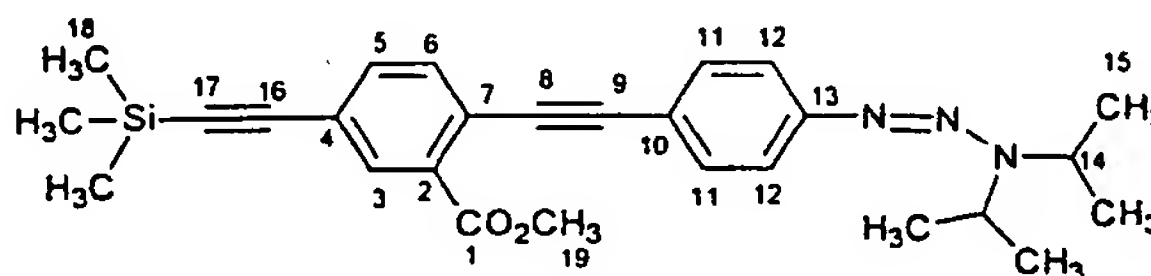
CCM : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc : 9 / 1) : 0,46 ;

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7,91 (d, J<sub>4-6</sub> = 8,0 Hz, 1H, H<sub>4</sub>) ; 7,87 (d, J<sub>7-6</sub> = 2,1 Hz, 1H, H<sub>7</sub>) ; 7,18 (dd, J<sub>6-7</sub> = 2,1 Hz, J<sub>6-4</sub> = 8,0 Hz, 1H, H<sub>6</sub>) ; 3,91 (s, 3H, H<sub>11</sub>) ; 0,23 (s, 9H, H<sub>10</sub>) ;

RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 165,86 (1C, C<sub>1</sub>) ; 141,05 (1C, C<sub>4</sub>) ; 134,99 ; 133,90 (2C, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>) ; 134,78 (1C, C<sub>2</sub>) ; 123,10 (1C, C<sub>5</sub>) ; 102,61 (1C, C<sub>3</sub>) ; 96,60 (1C, C<sub>9</sub>) ; 93,83 (1C, C<sub>8</sub>) ; 52,31 (1C, C<sub>11</sub>) ; -0,44 (3C, C<sub>10</sub>) ;

SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) : m/e : 376 (100, [M+18]<sup>+</sup>) ;

**2-(4-trisopropyltriazénylphényléthynyl)-5-triméthylsilanyl  
éthynyl benzoate de méthyle 29 :**



**MODE OPERATOIRE**

5                    676 mg de 27 (1,88 mmol, 1 éq.) sont mis en solution dans 7 ml de THF, puis 132 mg de Pd (0,18 mmol, 0,01 éq.) et 132 mg d'iodure de cuivre (3,76 mmol, 0,02 éq.) sont additionnés. Après agitation du milieu réactionnel pendant 15 min., 430 mg de 28 (1,88 mmol, 1 éq.) en solution dans 7 ml de THF sont additionnés  
10 évaporation à sec, le résidu est purifié sur gel de silice 60H (Hexane/EtOAc : 97/3) pour conduire à 683 mg d'une poudre jaune citron avec un rendement de 79%.

**FB** : C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Si

**PM** : 459 g/mol

**CCM** : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc : 9 / 1) : 0,28 ;

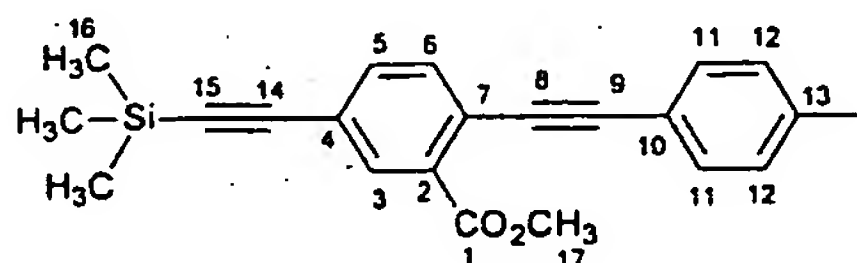
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** : δ 8,06 (s, 1H, H<sub>3</sub>) ; 7,34-7,57 (m, 6H, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>11</sub>,  
15 H<sub>12</sub>) ; 5,27 (sl, 1H, H<sub>14</sub>) ; 3,96 (s, 4H, H<sub>14</sub>, H<sub>19</sub>) ; 1,31 (sl, 12H, H<sub>15</sub>) ; 0,25 (s, 9H, H<sub>18</sub>) ;

**RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** : δ 165,84 (1C, C<sub>1</sub>) ; 151,78 (1C, C<sub>13</sub>) ; 134,28 ;  
133,85 ; 133,45 ; 132,99 (4C, C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>) ; 132,99 (2C, C<sub>11</sub>) ; 131,36 (1C, C<sub>2</sub>) ;  
123,80 ; 122,16 (2C, C<sub>7</sub>, C<sub>10</sub>) ; 102,08 (2C, C<sub>12</sub>) ; 118,54 (1C, C<sub>4</sub>) ; 103,47 (1C,  
20 C<sub>17</sub>) ; 97,21, 96,83 (2C, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>) ; 87,69 (1C, C<sub>16</sub>) ; 52,02 (1C, C<sub>19</sub>) ; 48,88, 45,97  
(2C, C<sub>14</sub>) ; 23,72, 19,16 (4C, C<sub>15</sub>) ; -0,36 (3C, C<sub>18</sub>) ;

**SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %)** : m/e : 460 (100, [M+1]<sup>+</sup>) ;



**2-(4-iodo-phényléthynyl)-5-triméthylsilanyléthynyl benzoate de méthyle :**



### MODE OPERATOIRE

5 Dans un tube scellé sont placés 2,3 g de **29** (5 mmol, 1 éq.) dans 5 ml d'iodure de méthyle (90 mmol, 18 éq.). Le milieu réactionnel est chauffé à 120°C pendant 72h., puis est évaporé à sec. Le résidu est repris dans 20 ml d'éther éthylique, filtré puis évaporé pour conduire à 2,2 g d'une huile jaune avec un rendement de 96%.

FB : C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>O<sub>2</sub>SiI

PM : 458 g/mol

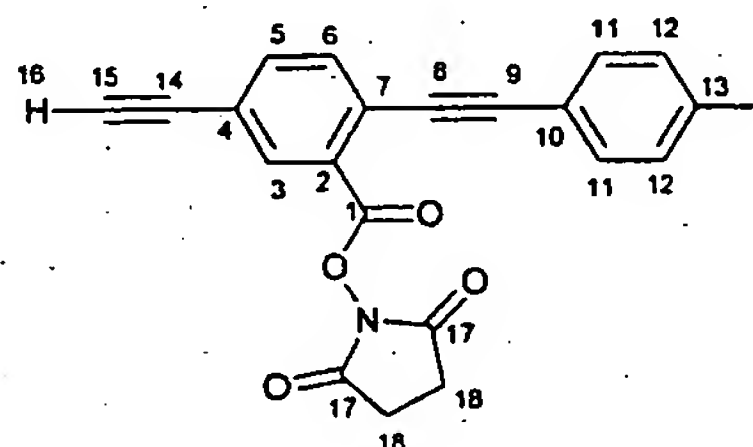
10 CCM : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc : 9 / 1) : 0,38 ;

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 8,06 (s, 1H, H<sub>3</sub>) ; 7,68 (d, J<sub>11-12</sub> = 8,0 Hz, 2H, H<sub>12</sub>) ; 7,54 (s, 2H, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>) ; 7,26 (d, J<sub>11-12</sub> = 8,0 Hz, 2H, H<sub>11</sub>) ; 3,93 (s, 3H, H<sub>17</sub>) ; 0,25 (s, 9H, H<sub>16</sub>) ;

RMN <sup>13</sup>C (75,47 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 165,51 (1C, C<sub>1</sub>) ; 137,36 (2C, C<sub>12</sub>) ; 134,40 ;  
 15 133,87 ; 133,59 (3C, C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>) ; 132,97 (2C, C<sub>11</sub>) ; 131,54 (1C, C<sub>2</sub>) ; 122,95 (2C, C<sub>7</sub>, C<sub>10</sub>) ; 122,38 (1C, C<sub>4</sub>) ; 103,21 (1C, C<sub>15</sub>) ; 97,35, 94,96 (2C, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>) ; 89,19 (13C, C<sub>14</sub>) ; 94,54 (1C, C<sub>13</sub>) ; 52,08 (1C, C<sub>17</sub>) ; -0,40 (3C, C<sub>16</sub>) ;

SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) : m/e : 459 (59, [M+1]<sup>+</sup>) ; 476 (100, [M+18]<sup>+</sup>)

20 **5-éthynyl-2-(4-iodo-phényléthynyl)-benzoate de 2,5-dioxo-pyrrolidine-1-yle **30** :**



### MODE OPERATOIRE

Après un traitement basique dans le méthanol de 500 mg de 2-(4-iodo-phényléthynyl)-5-triméthylsilanyléthynyl benzoate de méthyle, 68 mg d'acide 5-

éthynyl-2-(4-iodo-phényléthynyl)benzoïque (0,18 mmol, 1 éq.) sont mis en solution dans 3 ml de THF, puis 25 mg de N-hydroxysuccinimide (0,22 mmol, 1,2 éq.) et 13 mg de diméthylaminopyridine (0,10 mmol, 0,55 éq.) sont additionnés. Après avoir placé le milieu réactionnel à 0°C, 45 mg de dicyclohexylcarbodiimide (0,22 mmol, 1,2 éq.) en solution dans 1 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sont additionnés goutte à goutte. L'agitation est maintenue pendant 15 en laissant monter la température lentement. Le milieu réactionnel est ensuite filtré puis évaporé pour conduire à un résidu qui est purifié par chromatographie sur gel de silice. Le produit ainsi obtenu est lavé une fois à l'EtOAc et 50 mg d'un solide jaune pale avec un rendement de 60%.

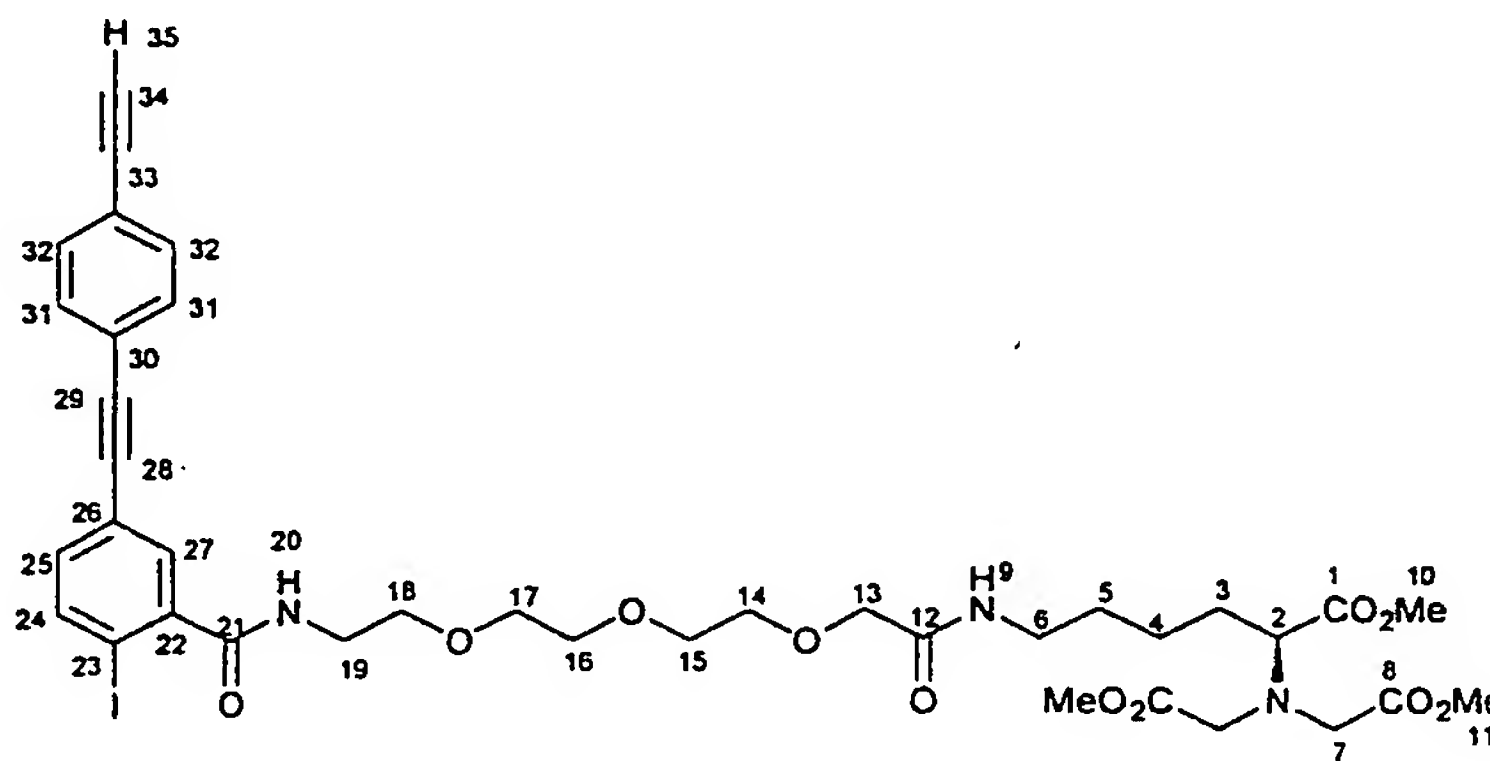
10 FB : C<sub>21</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>NI PM : 469 g/mol

CCM : R<sub>f</sub> (Hexane / EtOAc : 60 / 40) : 0,5 ;

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ 8,03 (s, 1H, H<sub>3</sub>) ; 7,44-7,50 (m, 4H, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>12</sub>) ; 7,06 (d, J<sub>11-12</sub> = 8,2 Hz, 2H, H<sub>11</sub>) ; 3,22 (s, 1H, H<sub>16</sub>) ; 2,74 (s, 4H, H<sub>18</sub>)

SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) : m/e : 470 (9,8, [M+1]<sup>+</sup>) ; 477 (100, [M+18]<sup>+</sup>)

15 2-(bis)méthoxycarbonylméthyl-amino)-6-(2-[2-(2-(2-[5-éthynyl-2-(4-iodo-phényléthynyl)-benzoylamino]-éthoxy)-éthoxy)-éthoxy]-acétylamino)-hexanoate de méthyle **31b** :



### MODE OPERATOIRE

20 92 mg de **30** (0,18 mmol, 1 éq.) en solution dans 3 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et 0,25 ml de triéthylamine (1,8 mmol, 10 2q.) sont additionnés goutte à goutte sur 88 mg de **21b** (0,18 mmol, 1 éq.) en solution dans 2 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 4h, puis est évaporé à sec. Le résidu obtenu

est chromatographié sur gel de silice 60H (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH : 97/3) pour conduire à 60 mg d'une huile légèrement jaune avec un rendement de 40%.

FB : C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>O<sub>11</sub>N<sub>3</sub>I

PM : 847 g/mol

CCM : R<sub>f</sub> (MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 1 / 9) : 0,47 ;

5 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 8,00 (s, 1H, H<sub>27</sub>) ; 7,70 (d, J<sub>32-31</sub> = 8,2 Hz, 2H, H<sub>32</sub>) ; 7,50 (sl, 3H, H<sub>24</sub>, H<sub>25</sub>, H<sub>20</sub>) ; 7,26 (d, J<sub>31-32</sub> = 8,2 Hz, 2H, H<sub>31</sub>) ; 6,61 (tl, 1H, H<sub>9</sub>) ; 3,88 (s, 2H, H<sub>13</sub>) ; 3,16-3,70 (m, 25H, H<sub>7</sub>, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>14</sub>, H<sub>15</sub>, H<sub>16</sub>, H<sub>17</sub>, H<sub>18</sub>, H<sub>19</sub>) ; 3,16-3,25 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>35</sub>) ; 1,41-1,69 (m, 6H, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ;

SM (70eV/DCI/NH<sub>3</sub>/intensité %) : m/e : 848 (7, [M+1]<sup>+</sup>) ;

10 Microanalyse pour C<sub>30</sub>H<sub>42</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub> I :

Calc. : C, 53,84 ; H, 5,46 ; N, 4,95 ; O, 20,76 ; I, 14,97

Exp. : C, 52,62 ; H, 5,84 ; N, 4,98 ;

**Exemple 4 : Fixation de protéines His-tag sur un bâton moléculaire fonctionnalisé par un complexe de nickel Ni-NTA.**

15 La fixation de la sous-unité ABC23-(His)<sub>6</sub> des ARN Polymérases de levure sur le polymère P0 fonctionnalisé par des complexes de nickel-NTA a été étudiée. Une étude par chromatographie de perméation a permis de mettre en évidence la fixation spécifique de protéines "étiquetées-histidine" sur le polymère. En effet, en présence de polymère l'élution de la protéine est accélérée. Plusieurs protéines se  
20 fixent sur le polymère formant ainsi des complexes protéiques de plus hauts poids moléculaires. De plus, cette fixation est induite par une interaction entre le nickel et l'étiquette polyhistidine car la protéine ABC23 sans étiquette ne semble pas ou peu se fixer sur le polymère P0.

Protocole :

25 1 5 µl d'une solution 500µM de bâton moléculaire P0 dans du tampon Tris (10 mM, pH 8) sont additionnés soit à 5 µl d'une solution de protéine ABC23-His<sub>6</sub> (3,2 mg/ml dans du tampon Tris 10 mM, NaCl 150 mM), soit à 7 µl d'une solution de protéine ABC23 (2,3 mg/ml dans du tampon Tris 10 mM, NaCl 150 mM), ou bien à 5 µl de tampon Tris (10 mM, pH 8). Après 18h. sans agitation, le

volume de la solution est complété à 50 µl par addition de tampon Tris (10 mM, pH 8) et l'ensemble est injecté dans une boucle d'injection de 50 µl du Smart<sup>®</sup> system.

Conditions :

Etude de la fixation de l'ABC23-(His)<sub>6</sub> de l'ARN Polymérase de levure sur le polymère P0 par chromatographie de perméation à l'aide d'un Smart<sup>®</sup> system (Colonne Superose 6; elution Tris(10mM, pH 8 ; NaCl 150 mM)

**Exemple 5 : Observation par microscopie électronique de protéines His-tag sur un bâton moléculaire fonctionnalisé par un complexe de nickel Ni-NTA :**

La fixation d'une phosphatase-(His)<sub>6</sub> sur le polymère P0 fonctionnalisé par des complexes de nickel-NTA par chromatographie de perméation a été étudiée. On observe la structure des objets supramoléculaires formés par microscopie électronique. On note la formation d'agrégats linéaires de protéines.

Conditions expérimentales :

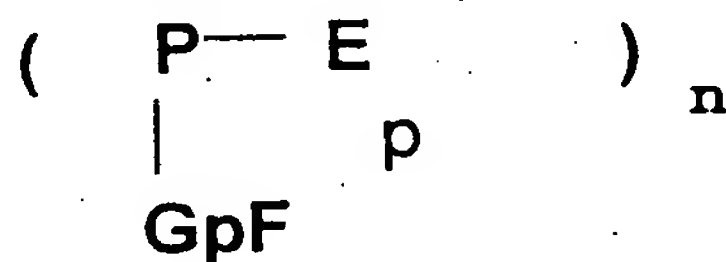
Après purification par chromatographie de perméation sur Smart<sup>®</sup> system (Colonne Superose 6; élution Tris(10mM, pH 8 ; NaCl 150 mM), 5 µl de solution sont déposés sur une grille de microscopie électronique recouverte d'un film de carbone et préalablement déchargée sous vide avec un courant de 20 mA. La grille est alors colorée négativement avec une solution d'acétate d'uranyle et observée dans le microscope électronique.

Photos enregistrées sur des films KODAK SO163 à un grossissement 45,000 x, avec un microscope électronique à transmission Philips CM120 fonctionnant à 100kV et dans des conditions minimales du faisceau d'électron (< 10 électrons/ Å<sup>2</sup>).

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en œuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite ; elle en embrasse au contraire toutes les variantes qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarter du cadre, ni de la portée, de la présente invention.

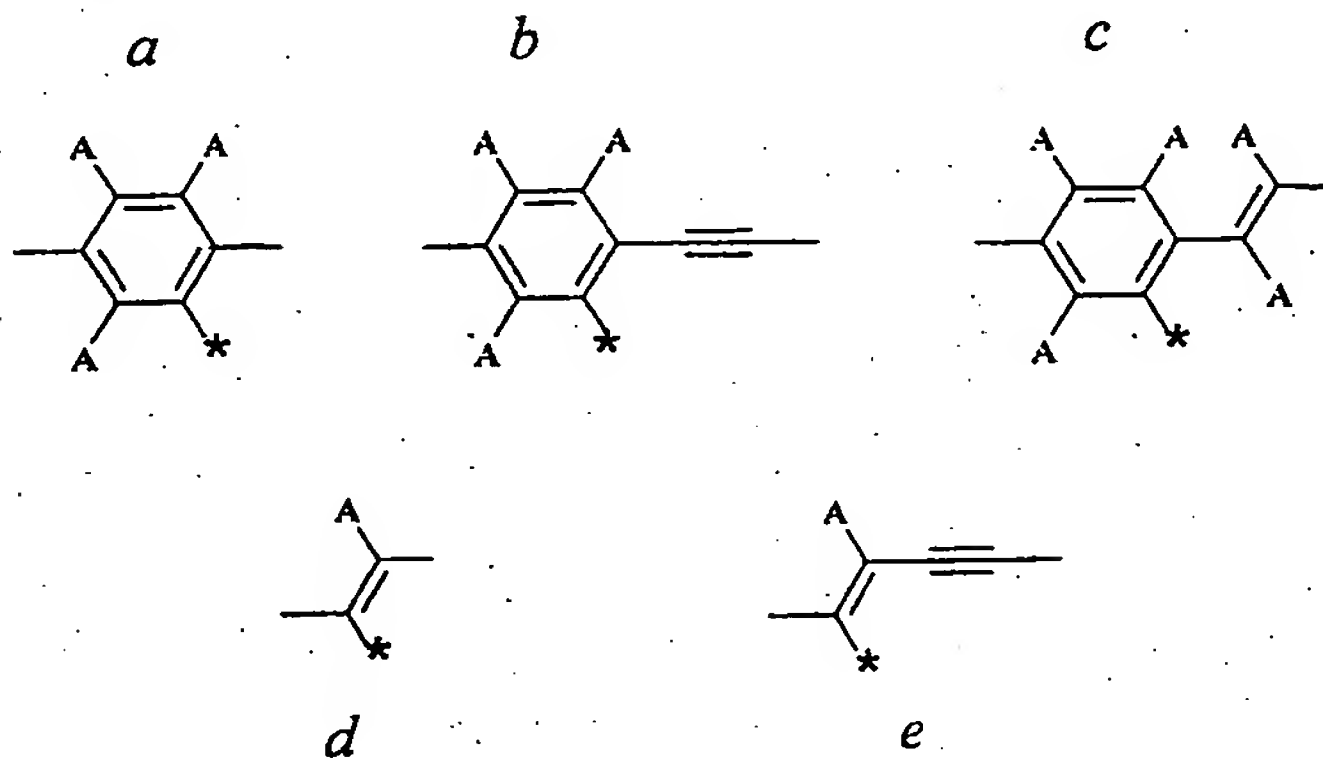
**REVENDICATIONS**

1°) Bâtons moléculaires, caractérisés en ce qu'ils présentent une structure représentée par la formule générale I suivante :



dans laquelle :

**P** représente un polymère sélectionné dans le groupe constitué par les polyphénylènes, les polyphénylènevinylènes, les polyphénylèneéthynylènes et les poly-vinylènes, tels qu'illustrés dans les formules ci-après :



\* liaison à GpF

dans lesquelles :

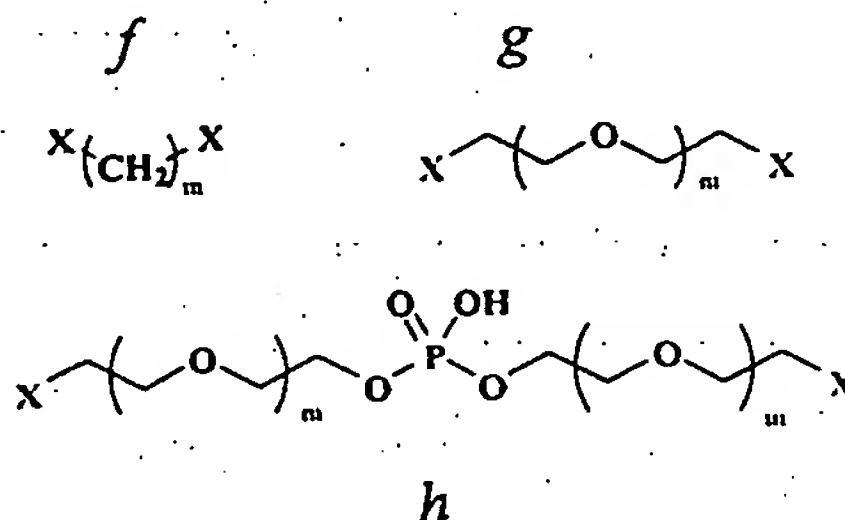
**A** représente un atome hydrogène ou l'un des groupes suivants :

15 alkyle, OH, O-alkyle, NH<sub>2</sub>, NH-alkyle, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>-alkyle, CONH<sub>2</sub>, CONH-alkyle,

**GpF** (groupe fonctionnel) représente un groupe B-R, dans lequel :

- B (bras de liaison) est sélectionné parmi des chaînons carbonés en C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, éventuellement substitués par des groupes alkyles, présentant ou non des insaturations ou des motifs poly-oxyéthylène pouvant présenter ou non en milieu de

20 chaîne des groupes phosphate, tels que :



dans lesquels :

m représente un nombre entier de 1 à 10,

X représente O, NHCO, OCO, COO, CONH, S, CH<sub>2</sub> ou NH et

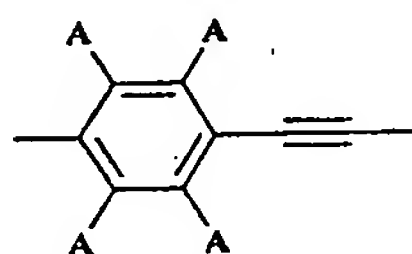
5 constitue aux extrémités desdits chaînons carbonés des fonctions organiques d'accrochage du type esters, amides, éthers, thioéthers ;

- R représente un groupe hydrophile, sélectionné parmi les groupes chargés positivement ou négativement ; des ligands ou analogues de macromolécules biologiques ; des complexes organométalliques interagissant avec des acides aminés  
10 ou des acides nucléiques et dont les ligands sont éventuellement fonctionnalisés par des groupements alkyles de liaison à E ;

n représente un nombre entier compris entre 5 et 1000,

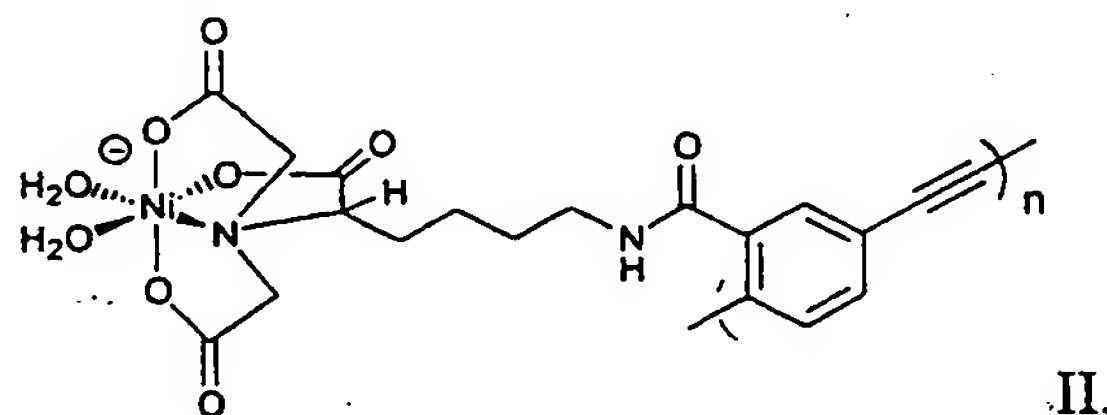
p représente un nombre entier compris entre 0 et 10 et

E (segment espaceur) représente un motif chimique dont la nature ne  
15 perturbe pas la structure rigide du squelette formé par P et représente un motif phénylène, éthynylène, vinylène ou la combinaison de ces motifs, comme illustré dans la formule ci-après :



dans laquelle A représente un atome d'hydrogène ou l'un des  
20 groupes suivants : alkyle, OH, O-alkyle, NH<sub>2</sub>, NH-alkyle, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>-alkyle, CONH<sub>2</sub>, CONH-alkyle.

2°) Bâtons moléculaires selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils présentent la formule générale II suivante :



II,

25

dans laquelle :



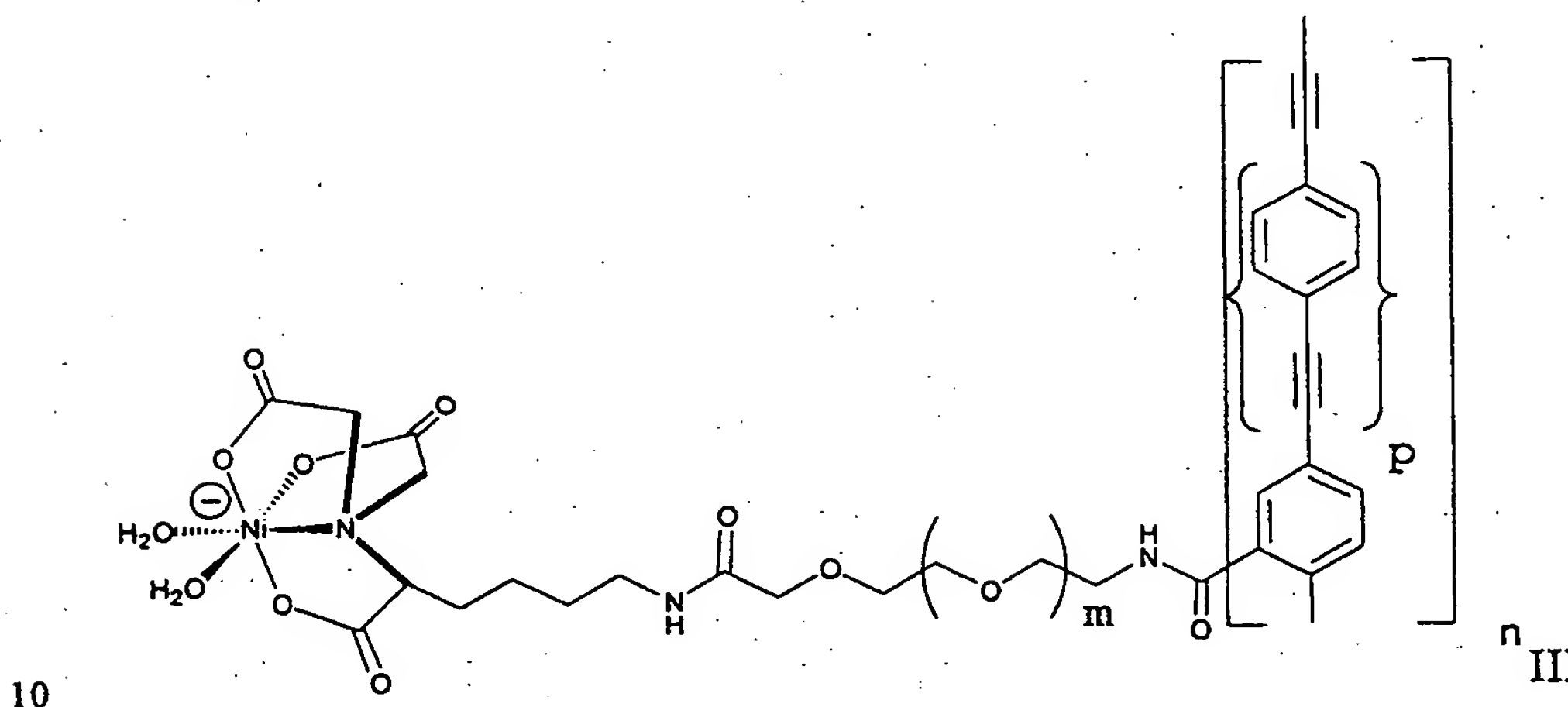
$p=0$  : absence de E,

P représente le groupe *b* tel que défini ci-dessus,

GpF comprend un groupe B représenté par un groupe *f* tel que défini ci-dessus, dans lequel  $m=3$ , l'un des X représente NHCO et l'autre X représente CH<sub>2</sub>,  
 5 et un groupe R représenté par un complexe organométallique à base de nickel (complexe Ni-NTA) et

*n* représente un nombre entier compris entre 5 et 1000.

3°) Bâtons moléculaires selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils présentent la formule générale III suivante :



dans laquelle :

*m* représente un nombre entier compris entre 1 et 10,

*p* représente un nombre entier compris entre 0 et 10,

15

P représente le groupe *b* tel que défini ci-dessus,

GpF comprend un groupe B représenté par un groupe *h* tel que défini ci-dessus, dans lequel les deux X sont identiques et représentent NHCO et un groupe R représenté par un complexe organométallique à base de nickel (complexe Ni-NTA), dont le ligand NTA est fonctionnalisé par un groupe alkyle en C<sub>4</sub>, et

20

*n* représente un nombre entier compris entre 5 et 1000.

4°) Procédé de fixation et/ou d'auto-organisation de macromolécules biologiques, caractérisé en ce qu'il comprend essentiellement l'incubation, pendant au moins 15 minutes, d'une macromolécule biologique en solution avec un bâton molé-

culaire, selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans des conditions de température et de pH convenables.

5 5°) Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que lesdites macromolécules biologiques sont notamment des protéines solubles, membranaires, trans-membranaires, des enzymes, des anticorps, des fragments d'anticorps ou des acides nucléiques.

6°) Procédé selon la revendication 4 ou la revendication 5, caractérisé en ce que ladite solution est constituée d'un solvant de solubilisation desdites macromolécules biologiques, aqueux ou hydroalcoolique et contenant éventuellement  
10 au moins un détergent.

7°) Procédé selon l'une quelconques des revendications 4 à 6, caractérisé en ce que les conditions d'incubation sont de préférence les suivantes : incubation à température ambiante, pendant 15 minutes à 48 heures, à un pH compris entre 5,5 et 8,5.

15 8°) Objet supramoléculaire, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un bâton moléculaire selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, sur lequel des macromolécules biologiques sont fixées de manière non-covalente.

9°) Objet supramoléculaire, caractérisé en ce qu'il est constitué d'un bâton moléculaire selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, sur lequel des  
20 macromolécules biologiques sont auto-organisées sous une forme cristalline.

10°) Application de l'objet supramoléculaire selon la revendication 8 ou la revendication 9, à l'étude structurale des macromolécules qui lui sont associées.

11°) Application de l'objet supramoléculaire selon la revendication 8 ou la revendication 9, en tant que réactif biologique.

25 12°) Application de l'objet supramoléculaire selon la revendication 8 ou la revendication 9, en tant que biocapteurs ou bioconducteurs.

1/3

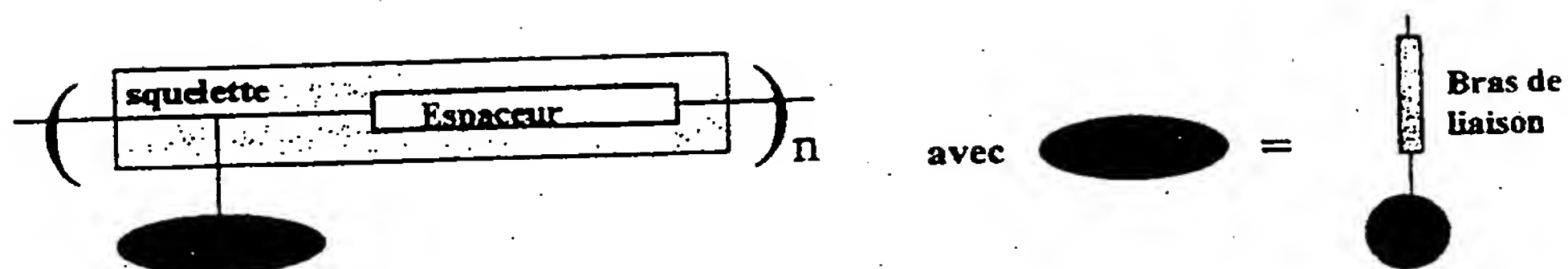


FIGURE 1

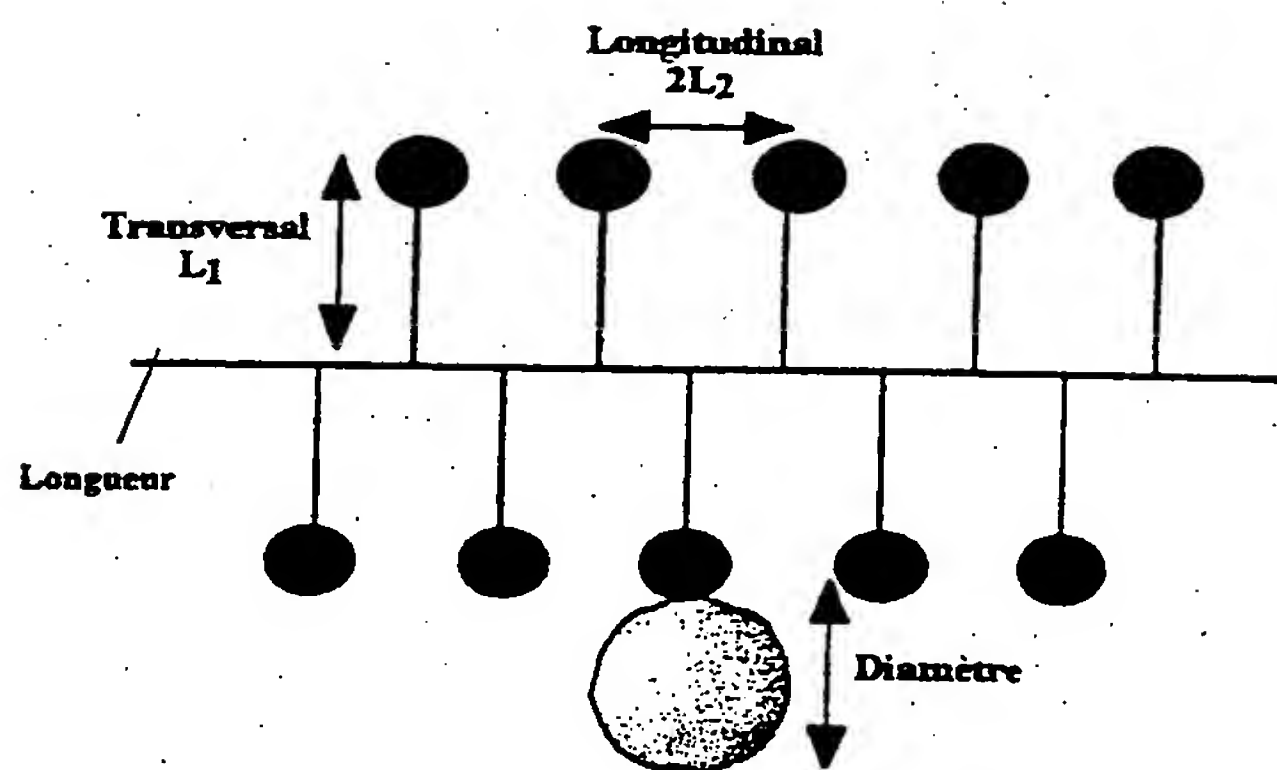
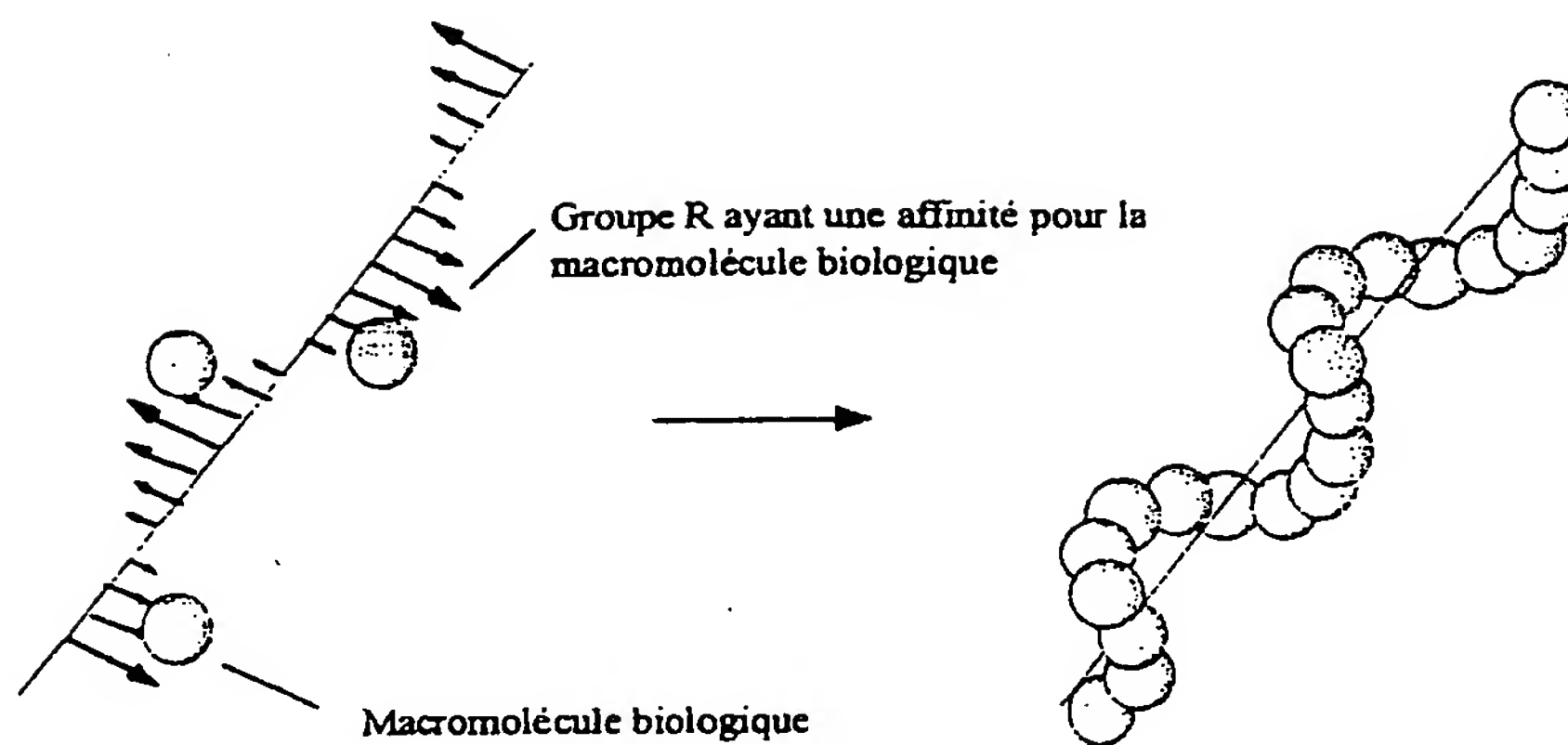
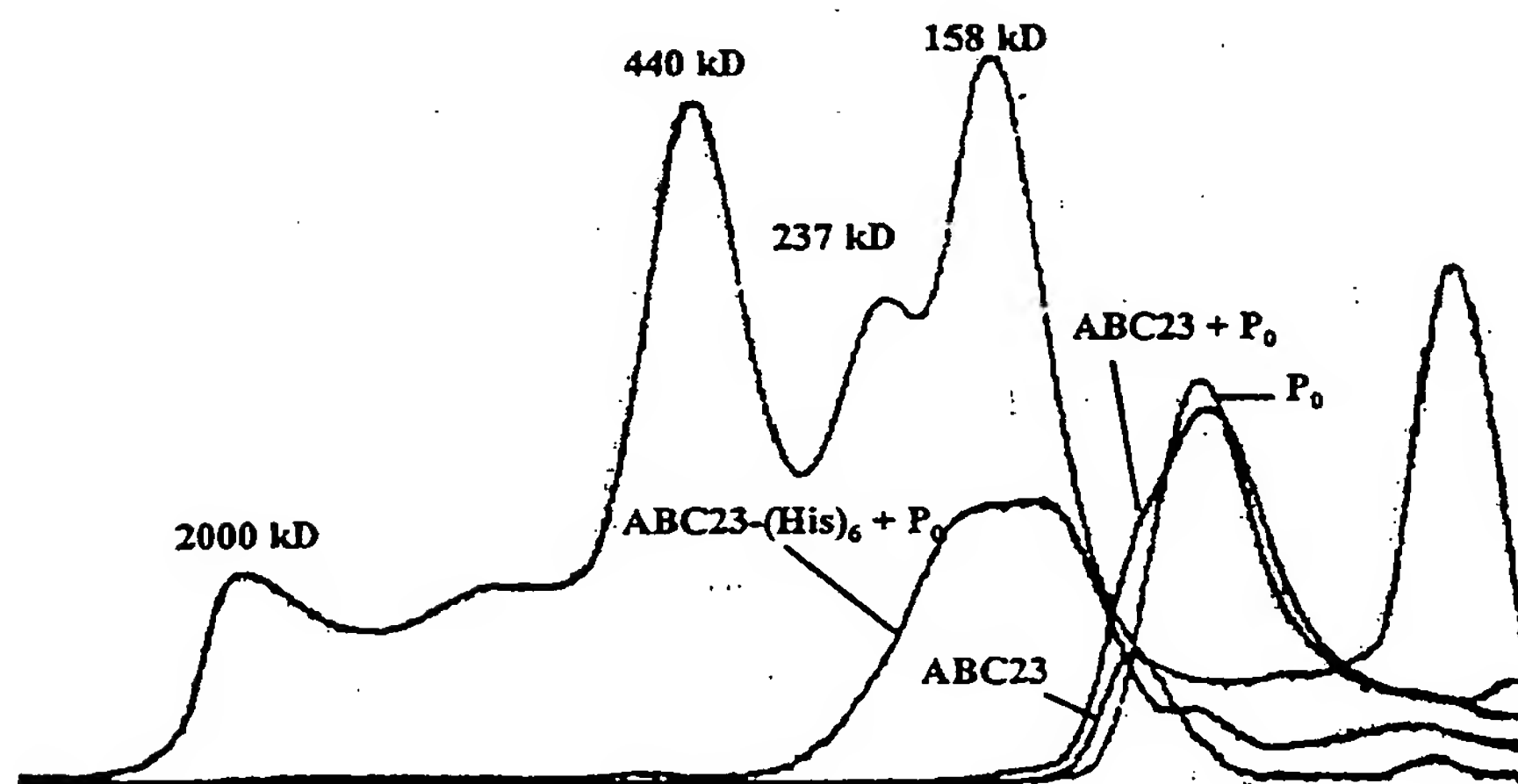


FIGURE 2

2/3

FIGURE 3FIGURE 4

3/3

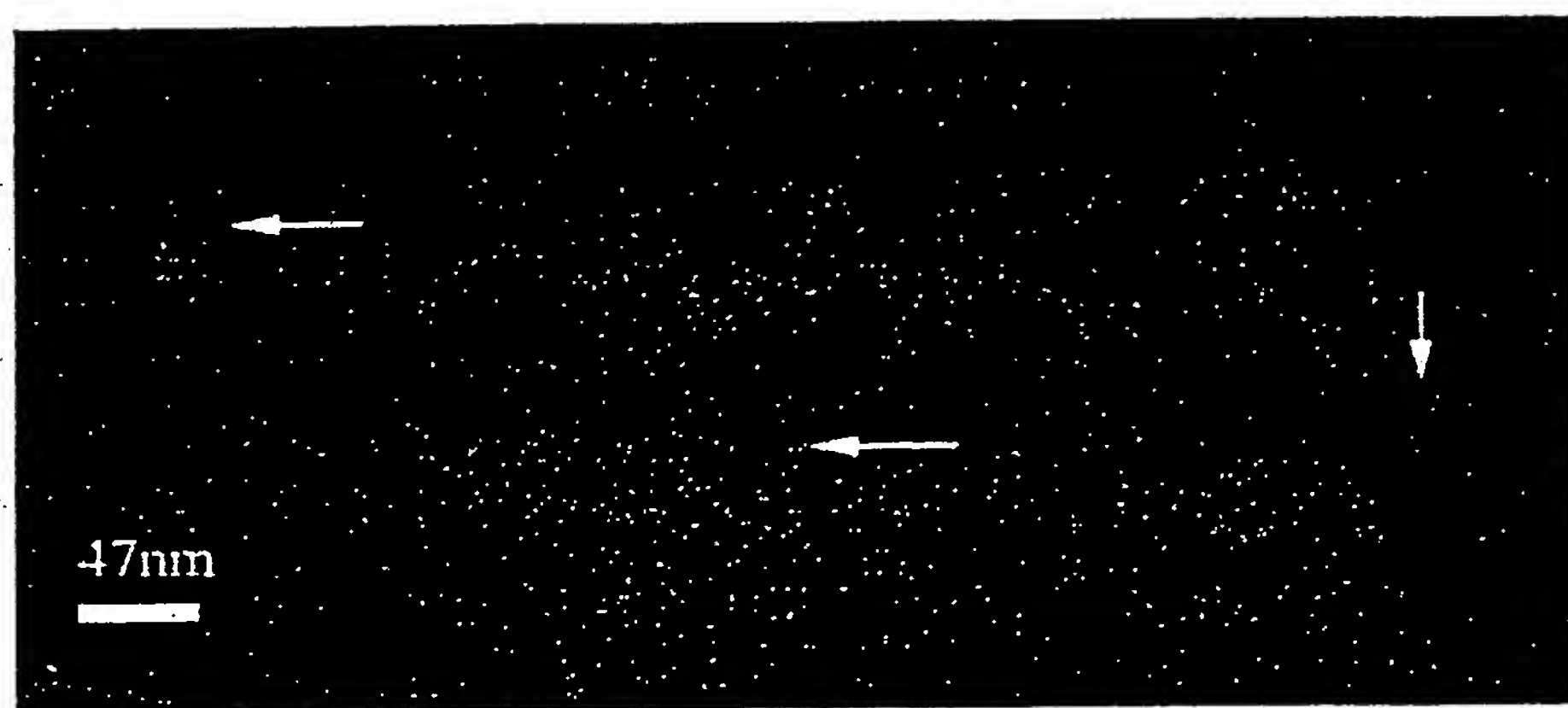


FIGURE 5

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 99/01207

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 G01N33/543 G01N33/547 C12N11/06 C07F15/04 C08G61/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N C12N C07F C08G C30B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>KUBALEK EW, LE GRICE SFJ, BROWN PO: "Two-dimensional crystallization of histidine-tgged, HIV-1 reverse trascriptase promoted by a novel nickel-chelating lipid" JOURNAL OF STRUCTURAL BIOLOGY, vol. 113, no. 2, September 1994 (1994-09) - October 1994 (1994-10), pages 117-123, XP002096865 cited in the application the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☐ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 August 1999

Date of mailing of the international search report

02/09/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

La Gaetana, R



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intr      ional Application No  
PCT/FR 99/01207

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JAP BK, ZULAUF M, SCHEYBANI T, HEFTI A, BAUMEISTER W, AEBI U: "2D crystallization: from art to science" ULTRAMICROSCOPY, vol. 46, 1992, pages 45-84, XP002096893 cited in the application abstract page 72; figure 17 ----	1-12
A	MORONI M ET AL: "RIGID ROD CONJUGATED POLYMERS FOR NONLINEAR OPTICS. 1 CHARACTERIZATION AND LINEAR OPTICAL PROPERTIES OF POLY(ARYLENEETHYNYLENE) DERIVATIVES" MACROMOLECULES, vol. 27, 1994, pages 562-571, XP000650214 cited in the application abstract page 562-563, "results", 2.1 "Synthetic methods" ----	1-3
A	SWAGER TM, GIL CJ, WRIGHTON MS: "Fluorescence studies of poly(p-phenyleneethylene)s: the effect of anthracene substitution" JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, vol. 99, no. 13, 30 March 1995 (1995-03-30), pages 4886-4893, XP002096899 cited in the application abstract page 4886, chart 1 page 4887, scheme 1 -----	1-3

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Den e Internationale No  
PCT/FR 99/01207

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 G01N33/543 G01N33/547 C12N11/06 C07F15/04 C08G61/02

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 G01N C12N C07F C08G C30B

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>KUBALEK EW, LE GRICE SFJ, BROWN PO: "Two-dimensional crystallization of histidine-tgged, HIV-1 reverse trascriptase promoted by a novel nickel-chelating lipid" JOURNAL OF STRUCTURAL BIOLOGY, vol. 113, no. 2, septembre 1994 (1994-09) - octobre 1994 (1994-10), pages 117-123, XP002096865 cité dans la demande le document en entier</p> <p style="text-align: center;">---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-12

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☐ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### \* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

26 août 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

02/09/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

La Gaetana, R

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der. le Internationale No  
PCT/FR 99/01207

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	JAP BK, ZULAUF M, SCHEYBANI T, HEFTI A, BAUMEISTER W, AEBI U: "2D crystallization: from art to science" ULTRAMICROSCOPY, vol. 46, 1992, pages 45-84, XP002096893 cité dans la demande abrégé page 72; figure 17	1-12
A	MORONI M ET AL: "RIGID ROD CONJUGATED POLYMERS FOR NONLINEAR OPTICS. 1 CHARACTERIZATION AND LINEAR OPTICAL PROPERTIES OF POLY(ARYLENEETHYNYLENE) DERIVATIVES" MACROMOLECULES, vol. 27, 1994, pages 562-571, XP000650214 cité dans la demande abrégé page 562-563, "results", 2.1 "Synthetic methods"	1-3
A	SWAGER TM, GIL CJ, WRIGHTON MS: "Fluorescence studies of poly(p-phenyleneethylene)s: the effect of anthracene substitution" JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY, vol. 99, no. 13, 30 mars 1995 (1995-03-30), pages 4886-4893, XP002096899 cité dans la demande abrégé page 4886, chart 1 page 4887, scheme 1	1-3

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ BLACK BORDERS

☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images  
problems checked, please do not report the  
problems to the IFW Image Problem Mailbox**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**